

Dissertação – Artigo de Revisão Bibliográfica
Mestrado Integrado em Medicina

**APLASIA RUBRA PURA SECUNDÁRIA,
A PROPÓSITO DE UM CASO CLÍNICO**

João Diogo Sarmento e Castro

Orientador: Dra. Cristina Gonçalves

Porto, Junho 2014

Dissertação – Artigo de Revisão Bibliográfica
Mestrado Integrado em Medicina

**APLASIA RUBRA PURA SECUNDÁRIA,
A PROPÓSITO DE UM CASO CLÍNICO**

João Diogo Sarmento e Castro ¹

Orientador: Dra. Cristina Maria Andrade Pereira Gonçalves²

¹ Aluno do 6º Ano Profissionalizante – Mestrado Integrado em Medicina
Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar – Universidade do Porto
nº de estudante: 200805460

Endereço electrónico: joaodscastro@hotmail.com

² Professora Convidada do Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar
Assistente Graduada em Hematologia Clínica do Hospital de Santo
António Centro Hospitalar do Porto

ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS.....	2
NOTA INTRODUTÓRIA.....	3
RESUMO.....	5
ABSTRACT.....	6
INTRODUÇÃO.....	7
CAUSAS ASSOCIADAS A APLASIA RUBRA PURA SECUNDÁRIA	
○ Timoma.....	9
○ Infecções virais.....	10
○ Fármacos.....	12
○ Pós transplante alogénico de Células Estaminais Hematopoiéticas com incompatibilidade ABO.....	15
○ Terapia com Eritropoetina Recombinante Humana.....	16
○ Doenças Linfoproliferativas.....	20
○ Doenças Auto-imunes.....	24
○ Gravidez.....	25
CONCLUSÃO.....	27
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	28
ANEXOS.....	39

LISTA DE ABREVIATURAS

- ADN** – Ácido Desoxirribonucleico
- AIF** – Aplasia Rubra Pura Induzida por Fármacos
- ARP** – Aplasia Rubra Pura
- ARP-AZ** – Aplasia Rubra Pura associada à Azatioprina
- ARPG** – Aplasia Rubra Pura Induzida pela Gravidez
- ARP-ISO** – Aplasia Rubra Pura associada à Isoniazida
- ASH** – Albumina Sérica Humana
- BFU-E** – *Erythroid Burst-Forming Unit*
- CAT** – Crise Aplásica Transitória
- CFU-E** – *Erythroid Colony-Forming Unit*
- DRC** – Doença Renal Crónica
- EBV** – Vírus Epstein-Barr
- Epo-ARP** – Aplasia Pura Rubra induzida pela Epoetina
- EUA** – Estados Unidos da América
- FDA** – *Food and Drug Administration*
- GVHD** – Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro
- Hb** – Hemoglobina
- HIV** – Vírus da Imunodeficiência Humana
- HLA** – Antígeno Leucocitário Humano
- HREPO/EPO** – Eritropoetina Recombinante Humana / Epoetina
- HTLV-1** – Vírus da Leucemia Linfoma de Células T tipo 1 (*Human T Cell Leukemia Lymphoma Virus type 1*)
- KIR** – *Killer Inhibitory Receptors*
- LES** – Lúpus Eritematoso Sistémico
- LGL** – Linfócitos Grandes Granulares (*Large Granular Lymphocytes*)
- LLC** – Leucemia Linfocítica Crónica
- MHC-I** – Complexo Major de Histocompatibilidade
- MO** – Medula Óssea
- PVB19** – Parvovírus B19
- TCEH** – Transplante Alogénico de Progenitores Hematopoiéticos

NOTA INTRODUTÓRIA

O tema da presente revisão bibliográfica surgiu primordialmente após o contato com um caso (a seguir descrito) de Aplasia Rubra Pura secundário à gravidez, de uma doente seguida no Hospital de Santo António do Centro Hospitalar do Porto. Este caso clínico assumiu-se como ponto de partida, já que despertou enorme interesse e curiosidade em tentar aprofundar o conhecimento sobre esta entidade clínica, explorando as restantes possíveis causas deste tipo de insuficiência medular, para além do contexto na gravidez.

Caso Clínico

Mulher caucasiana de 36 anos de idade, com gravidez de 14 semanas, encaminhada, em finais de Julho de 2012, para consulta de Hematologia devido a anemia com 8.7 g/dL de Hemoglobina (Hb), associada a astenia marcada e palidez. Não se encontrava a fazer nenhuma medicação para além de ácido fólico. Nesse dia, apresentava níveis de Hb de 7.5 g/dL com ligeira macrocitose (VGM 103.6 fL), anisocitose (RDW 18.8%) e contagem absoluta de reticulócitos diminuída ($34.5 \times 10^9/L$). As contagens de plaquetas ($269 \times 10^3/\mu L$) e leucócitos ($9.03 \times 10^3/\mu L$) eram normais. O esfregaço de sangue periférico evidenciava anisocitose e macrocitose eritrocitária moderada e ligeira, respetivamente. Os estudos do ferro demonstraram níveis elevados de ferritina sérica (318 $\mu g/L$), saturação da transferrina (84%) e ferro sérico (285 $\mu g/dL$). O doseamento de vitamina B12 apresentava-se normal baixo. Foi introduzida terapia com eritropoetina (EPO) e vitamina B12, e agendada reavaliação do quadro clínico, que apesar de ter demonstrado melhoria da sintomatologia, mantinha anemia com valores de 6.9 g/dL de Hb. Os estudos virais foram negativos para Parvovírus B19, Epstein Barr, Citomegalovírus, Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) e Vírus e da Hepatite A, B e C. Os testes de antiglobulina direto e indireto eram negativos. Os auto-anticorpos anti-nucleares, anti-citoplasma dos neutrófilos e anti-DNA de cadeia dupla e o Fator Reumatóide foram negativos. O traçado de eletroforese era normal. O exame histológico da medula óssea (MO) mostrou densidade celular normal. Estavam presentes células das linhas mielóide e megacariocítica, havendo aumento relativo dos megacariócitos com ligeiro grau de dismegacariocitose. As células da linhagem rubra encontravam-se muito diminuídas, sendo a relação série mielóide / eritróide muito aumentada, 28.2:1 (normal – 3:1).

Perante os achados acima descritos, em Agosto de 2012 foi feito o diagnóstico

de Aplasia Rubra Pura secundária à gravidez.

A doente tinha história, em 2010, de anemia grave macrocítica, com displasia das três linhagens no sangue periférico, atribuível a toxicidade farmacológica e dietas agressivas para emagrecer. Para além disso tinha tido, em Janeiro de 2012, abortamento no 1º trimestre de uma primeira gravidez. Os dados referentes ao abortamento não se encontravam disponíveis, pelo que não é possível extrapolar uma relação prévia deste episódio com uma possível ARP secundária a essa gestação.

A terapia com EPO foi descontinuada devido a valores elevados da mesma (1684 U/L), e foi iniciado suporte transfusional de 2 em 2 semanas a partir do 4º mês de gestação, e posteriormente 6 transfusões mais espaçadas, sendo a última no 7º mês de gravidez. A gravidez terminou às 39 semanas com o nascimento de um bebé saudável por parto vaginal distócico sem intercorrências. A doente apresentou resolução espontânea da anemia, no final da gravidez, com normalização dos valores de Hb (>12 g/dL), sem que tenha havido recorrência posterior da mesma. A doente desenvolveu uma síndrome de vasoconstrição cerebral reversível, 3 dias após o parto.

RESUMO

Introdução: A Aplasia Rubra Pura é uma síndrome hematológica rara, caracterizada pela diminuição acentuada de precursores eritróides na medula óssea. Os doentes apresentam anemia progressiva severa, com uma contagem baixa de reticulócitos, sendo que as linhagens megacariocítica e granulocítica são habitualmente normais. As formas adquiridas da doença podem surgir como um distúrbio hematológico primário, na ausência de outra doença subjacente, ou serem devidas a um espectro variado e heterogéneo de causas secundárias.

Objetivos: Apresentar uma revisão bibliográfica sobre as principais causas de Aplasia Rubra Pura secundária, descrevendo os diversos mecanismos fisiopatológicos subjacentes, bem como as características do diagnóstico e aspetos do tratamento.

Desenvolvimento: Apesar da Aplasia Rubra Pura ser uma doença relativamente rara, múltiplos fatores podem estar envolvidos na sua fisiopatologia. Estes incluem entidades clínicas tão distintas como infeções virais (essencialmente por Parvovírus B19), timomas, doenças linfoproliferativas, doenças auto-imunes, transplante de células estaminais ABO incompatível, gravidez, ou até a exposição a determinados fármacos ou químicos. Recentemente foi identificada outra etiologia secundária, traduzida pelo aumento de incidência desta doença entre 1998 e 2004, devido ao tratamento com eritropoetina humana recombinante.

Conclusões: A Aplasia Rubra Pura é frequentemente diagnosticada quando todas as outras causas de anemia foram consideradas e excluídas. Tendo em conta a heterogeneidade de distúrbios que pode englobar, é crucial identificá-los corretamente, uma vez que o seu tratamento é baseado nos diferentes mecanismos fisiopatológicos subjacentes. No entanto, devido à sua raridade, ainda não existem ensaios clínicos controlados e randomizados, pelo que as recomendações terapêuticas são ainda baseadas em descrições de casos ou de pequenas séries de casos.

PALAVRAS-CHAVE: Aplasia Pura Rubra; anemia; eritropoiese; eritropoetina; parvovirus B19, auto-imunidade.

ABSTRACT

Introduction: Pure Red Cell Aplasia is a rare hematologic syndrome, characterized by the marked decrease of red cell progenitors in the bone marrow. The patients show progressive and severe anemia, with low reticulocyte count, nevertheless the granulocytic and megakaryocytic series are usually normal. The acquired forms of the disease can arise as a primary hematologic disorder, when there is no other underlying disease, or be due to a wide and heterogeneous range of secondary causes.

Purpose: Literature review on main secondary causes of Pure Red Cell Aplasia, describing the different underlying physiopathological mechanisms, as well as its diagnosis and treatment features.

Development: Although Pure Red Cell Aplasia is a relatively rare disease, multiple factors can be involved in the physiopathology of its origin. These include clinical entities such as viral infections (mainly by Parvovirus B19), thymomas, lymphoproliferative disorders, auto-immune diseases, post ABO-incompatible bone marrow or stem cell transplant, pregnancy, or even the use of some drugs or chemicals. Recently, other secondary etiology was identified, because of the increased number of new cases, between 1998 and 2004, due to the treatment with human recombinant erythropoietin.

Conclusion: Pure Red Cell Aplasia is often diagnosed when all other causes of anemia have been considered and excluded. Taking into account the disorders heterogeneity this disease can comprehend, it is crucial to identify them correctly, since the treatment is based on the different underlying mechanisms. Nevertheless, because of its infrequency, Pure Red Cell Aplasia has not been the subject of large or controlled and randomized clinical trials, and therefore, therapeutic recommendations are based on single case reports or small series of cases.

KEY-WORDS: Pure Red Cell Aplasia; anemia; erythropoiesis; erythropoietin; parvovirus B19; autoimmunity.

INTRODUÇÃO

A Aplasia Rubra Pura (ARP), descrita pela primeira vez por Paul Kaznelson, em 1922,⁽¹⁾ constitui uma forma rara de falência medular, em que apenas a linhagem eritrocitária é afetada. Esta aplasia não tem predileção racial, geográfica, etária, ou de género, podendo ter uma origem congénita, o Síndrome de Diamond Blackfan, cuja incidência é de 5 em 1 milhão de nascimentos, e se manifesta no período neonatal ou infância precoce. A ARP pode também ocorrer como uma síndrome adquirida, quer auto-limitada, predominante em crianças, quer como uma doença crónica, normalmente na idade adulta. Se não houver nenhuma doença ou condição subjacente, a ARP é considerada um distúrbio hematológico primário, que na sua maioria tem origem auto-imune, mas uma parte significativa é classificada como idiopática, apesar de uma investigação exaustiva.⁽²⁾ Por outro lado, as formas adquiridas podem estar associadas a um espectro abrangente e heterogéneo de causas secundárias, as quais serão o foco principal da presente revisão bibliográfica.

A ARP adquirida é caracterizada pelo aparecimento progressivo de anemia, geralmente normocítica normocrómica. Em muitos casos apresenta níveis de Hb muito baixos ao diagnóstico. Este é sugerido por reticulocitopenia severa (contagem de reticulócitos inferior a 1%), tendo sido sugerido que contagens superiores a 2% não são compatíveis com o diagnóstico de ARP. O exame posterior da MO revela ausência quase completa de precursores eritrocitários (eritroblastos <0.5%).⁽³⁾ Ao contrário da anemia aplásica, que envolve as três linhagens celulares hematológicas, na ARP, a aplasia é seletiva da série vermelha, pelo que, a contagem, morfologia e maturação das plaquetas e leucócitos não se encontra normalmente afetada. Os níveis de cobalamina, ácido fólico, transferrina e ferritina são normais, e a eritropoetina sérica encontra-se aumentada.⁽⁴⁾ Os estudos citogenéticos da MO são normais e não são encontradas alterações displásicas. Dependendo da etiologia ou da doença associada, podem ser observadas outras características específicas em exames de sangue e MO.

⁽²⁾

A distinção entre as formas primárias e secundárias é essencial, uma vez que muitas das etiologias secundárias têm tratamentos específicos, frequentemente muito eficazes, devendo estes ser dirigidos aos mecanismos fisiopatológicos subjacentes. A ARP poderá surgir pelo efeito direto de uma infeção viral sobre os precursores eritróides, ou como acontece na maioria dos casos, através de mecanismos de inibição eritróide, de natureza imune. Estes podem variar e englobam: anticorpos,

cujos alvos ainda não foram bem caracterizados, mas que podem afetar diversos estágios da diferenciação eritrocitária; toxicidade direta de linfócitos T e células NK sobre precursores eritróides; e a produção de inibidores solúveis, tais como citocinas pro-apoptóticas que afetam diretamente a série rubra. ⁽¹⁾

CAUSAS ASSOCIADAS A APLASIA RUBRA PURA SECUNDÁRIA

Aplasia Rubra Pura secundária a timoma

Uma das primeiras doenças a ser associada à ARP foi o timoma, uma neoplasia rara que tem origem nas células epiteliais tímicas. É o tumor mais comum no mediastino anterior.⁽⁵⁾ Em cerca de 40% dos doentes com timoma surgem diversas síndromes neoplásicas, em que a auto-imunidade é uma entidade clínica bem reconhecida.⁽⁶⁾ Apesar de a miastenia gravis ser a associação mais comum em doentes com timoma, foi igualmente descrita a associação com pelo menos 20 outras síndromes paraneoplásicas, como lúpus eritematoso sistémico e hipogamaglobulinemia (*Good's Syndrome*).^(7, 8) Segundo as primeiras observações, cerca de 50% dos doentes com ARP possuem timomas.^(5, 9) No entanto, estudos mais recentes indicam a presença dos mesmo em menos de 10% dos doentes com ARP.^(3, 10, 11)

A relação entre o tipo histológico do timoma e ARP ainda não é consensual. Masaoka *et al*, reportaram que num estudo de 17 casos de doentes com ARP todos os timomas, sem exceção, eram de células fusiformes.⁽¹²⁾ Apesar deste tipo histológico ser considerado o mais frequentemente associado à ARP, vários têm sido os estudos que contrariam esta tendência. Por exemplo, numa revisão de 56 casos associados a ARP, Hirst *et al* referiram que apenas 4 são do tipo células fusiforme puro.⁽¹³⁾ Mais recentemente, Kuo e Shih mencionaram que em 5 doentes com timoma, nenhum apresentou o tipo fusiforme.⁽¹⁴⁾ Deste modo, foi sugerido que esta discrepância possa ser devida a uma falta de consenso na classificação destes tumores no passado, que não haja uma forte correlação com nenhum tipo histológico específico e nem com o seu potencial invasivo.

O papel do timoma na patogénese da ARP continua por esclarecer, todavia é possível que os timomas sejam menos eficientes do que as células epiteliais tímicas normais na supressão da formação ou atividade de clones de células T auto-reativas, que apresentam rearranjos do gene que codifica para a cadeia beta do recetor da célula T (TCR, T cell receptor).⁽¹⁵⁾ Por outro lado, estudos recentes mostram que, através de estudos de rearranjos, não foram detetados clones de células T, e que os cariótipos dos doentes eram uniformemente normais, sugerindo que tais características sejam pouco comuns quando a ARP surge associada ao timoma.⁽¹⁶⁾ Deste modo, o

papel do timoma na criação de um ambiente propício para a expansão clonal de células T patogénicas poderá ser diferente entre indivíduos.

A literatura médica relevante para esta associação é restrita a relatos de casos e a pequenas séries de casos, o que revela a raridade desta situação clínica. Deste modo, o tratamento otimizado para ARP associada ao timoma é ainda desconhecido. O tratamento convencional passa pela ressecção cirúrgica do tumor, que apesar de inicialmente ser descrita como tendo uma taxa de resposta hematológica esperada entre 25 e 30% ⁽¹⁷⁾, tem sido cada vez mais considerada, por alguns estudos, como insuficiente na normalização da eritropoiese, apresentando percentagens de remissão baixas, em doentes com ARP associada. ⁽¹⁸⁾ Thompson e Steensma revelam ainda que a remoção cirúrgica não foi eficaz em todos os doentes (treze) do seu estudo. ⁽¹⁶⁾ Além disso, uma parte significativa dos doentes desenvolve ARP, pela primeira vez, após timectomia. ^(16, 19, 20) Sendo assim, e tendo em conta que anemia é devida a um fenómeno imune, pode ser necessário recorrer a terapia imunossupressora adjuvante para atingir remissão completa ^(12, 14), tais como corticosteróides, ciclosporina e ciclofosfamida. ⁽¹⁶⁾ Recentemente, num estudo da resposta a longo prazo à terapia imunossupressora ⁽²⁰⁾, verificou-se uma resposta excelente à ciclosporina, com uma prevenção eficaz da recidiva da ARP. Contudo, é ainda incerto se a não manutenção da ciclosporina consegue induzir uma remissão hematológica sustentada. Por este motivo, é prudente monitorizar a longo prazo os principais efeitos adversos deste fármaco, nomeadamente o desenvolvimento de infeções. ⁽¹⁶⁾

Aplasia rubra pura secundária a infeções virais

A infeção persistente por Parvovírus Humano B19 (PVB19) é relativamente comum a nível mundial e constitui a maior causa de ARP por infeções. As crianças são a principal fonte de transmissão, em que cerca de 50% apresenta níveis detetáveis de IgG. A infeção ocorre também durante a vida adulta, sendo que mais de 90% dos idosos são seropositivos. ⁽²¹⁾ Entre os vários agentes infecciosos capazes de suprimir a eritropoiese, o PVB19 é aquele que se destaca. Num estudo retrospectivo, foi detetado ADN do vírus no soro de 14% dos 57 doentes com ARP, sugerindo que a infeção crónica pode uma causa relativamente comum de ARP. ⁽²²⁾ Este vírus, constituído por uma cadeia simples de ADN não encapsulado, é transmitido via

respiratória, ou raramente por via sanguínea. A maioria das infecções por PVB19 é clinicamente inaparente. No entanto, as entidades clínicas associadas podem incluir o eritema infecioso (ou 5ª doença da infância), artropatia, hidrúpsia fetal, crise aplásica transitória (CAT) e a ARP.⁽²³⁾

O principal alvo do PVB19 são as células progenitoras de eritrócitos, na MO, que ao exprimirem recetores específicos para antígenos do grupo P tornam possível este tropismo selectivo.⁽²⁴⁾ Após a invasão e proliferação, o vírus destrói estas células até que a sua atividade seja interrompida, por uma vigorosa resposta de anticorpos IgM e IgG. Assim, espera-se que, em indivíduos saudáveis cujos eritrócitos tenham um tempo de vida normal de 120 dias, não ocorra uma anemia significativa e a recuperação da eritropoiese se processe num relativo curto espaço de tempo, sendo que esta resposta humoral resulta geralmente em imunidade contra uma reinfecção pelo vírus.⁽²⁵⁾ Contudo, as manifestações da infeção podem variar largamente com o estado hematológico e imunológico do hospedeiro. Por exemplo, a CAT mediada pelo PVB19, tem sido associada com um largo espectro de distúrbios hematológicos subjacentes, incluindo a esferocitose hereditária⁽²⁶⁾, anemia hemolítica⁽²⁷⁾, e a talassemia⁽²⁸⁾, que ao reduzirem o tempo de vida das hemácias, fazem com que a infeção produza uma descompensação transitória no sistema eritropoiético, podendo conduzir a uma anemia severa com valores de Hb na ordem dos 5 g/dL. A CAT causada pelo PVB19 pode ainda ser raramente associada a alterações noutras linhagens sanguíneas, com vários graus de neutropenia e trombocitopenia.^(29, 30) Um sinal citopático característico desta patologia é a presença, na MO, de pro-eritroblastos de aspeto bizarro, anormalmente gigantes, que aparecem no final da crise aplásica e que traduz a paragem de maturação.^(31, 32) Fisch *et al*⁽¹⁾ sugerem que estes pro-eritroblastos gigantes representam precursores eritrocitários precoces que aparecem após a eliminação do vírus, como evidência da regeneração da eritropoiese. A CAT é um problema auto-limitado, podendo requerer suporte transfusional.

Por outro lado, a infeção por PVB19 de carácter persistente pode ocorrer em variados estados de imunossupressão, que incluem doenças linfoproliferativas, infeção por HIV, doentes transplantados, imunodeficiências congénitas, ou até mesmo noutras disfunções imunes menos graves e evidentes.^(22, 23) Nestes casos, os doentes não são capazes de produzir eficazmente anticorpos, o que leva a que a viremia se mantenha ativa, pelo que a infeção persistente manifesta-se por uma anemia crónica de meses ou até anos, com características correspondentes à ARP.⁽²⁴⁾ Nestes doentes, o estado imunológico atual é um indicador mais sensível de ARP

secundária ao vírus, do que as próprias manifestações da infecção, uma vez que estas não estão presentes em cerca de 74% dos doentes. Deste modo, a infecção por PVB19, em doentes imunocomprometidos, deve ser incluída na lista de diagnósticos diferenciais de anemia severa crónica inexplicada.

O diagnóstico deverá ser baseado na evidência direta do ADN viral no soro por PCR e não na resposta imune do hospedeiro.⁽³³⁾ O exame da MO pode também ser útil mostrando os pró-eritroblastos gigantes característicos, apesar de em alguns casos não serem encontrados ⁽³⁴⁾ (Fig.1).

As imunoglobulinas intravenosas, que contêm grandes quantidades de IgG anti-PVB19, têm sido usadas desde 1989 ⁽²³⁾ para tratar ARP secundária à infecção crónica deste vírus em doentes imunocomprometidos. ⁽³⁵⁾ A remissão acontece normalmente no espaço de uma a duas semanas de tratamento. ⁽³⁶⁾ Com esta modalidade terapêutica, cerca de 93% dos doentes, mostram remissão completa da ARP no prazo de um ano. ⁽³⁷⁾ Contudo, está descrita também, a resolução espontânea em 8% de uma série de 98 doentes, bem como através do uso de eritropoetina ⁽³⁸⁾ ou até pela redução da imunossupressão ⁽³⁷⁾.

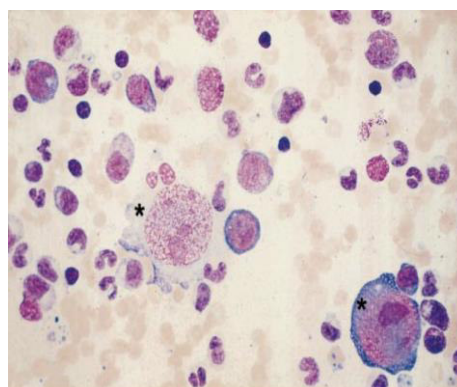


Figura 1 Citologia de MO, com 2 pronormoblastos gigantes, característicos da ARP associada ao PVB19. (1)

Apesar de não ser tão frequente como o PVB19, outros vírus têm sido implicados como causadores de ARP. Estes incluem os vírus da hepatite A ⁽³⁹⁻⁴³⁾ e C^(44, 45), o vírus de Epstein Barr (EBV) ⁽⁴⁶⁾, o citomegalovírus ⁽⁴⁷⁾ e o Vírus da Leucemia Linfoma de Células T tipo 1 (HTLV-1). ⁽⁴⁸⁾ Os mecanismos exatos pelos quais estes agentes provocam ARP ainda não estão completamente clarificados, mas é provável que envolvam a supressão mediada por células T, como é observado nos casos do HTLV-1 e do EBV ^(46, 48), ou através da destruição de precursores de eritrócitos, como na ARP induzida pela hepatite C. ^(44, 45)

Aplasia rubra pura induzida por fármacos

Um vasto número de fármacos tem sido implicado como possível causa de ARP. Ainda assim, esta causa secundária de ARP representa menos de 5% dos casos

reportados na literatura, e ao contrário do que acontece na anemia hemolítica e aplásica, a ARP induzida por fármacos (AIF) é uma causa pouco frequente de citopenia.⁽⁴⁹⁾ Apesar de mais de 30 fármacos diferentes poderem estar associados à ARP, a determinação da sua causalidade é dificultada pela possível sobreposição de outras causas subjacentes, no decurso da farmacoterapia. Além disso, a existência de metabolitos *in vivo*, dificulta a avaliação dos efeitos farmacológicos nos estudos *in vitro*.⁽⁵⁰⁾ Deste modo, tem sido difícil determinar o mecanismo pelo qual diversos fármacos amplamente usados afetam apenas uma linhagem celular, ou até uma linhagem progenitora.⁽⁵¹⁾ A patogenia da AIF é ainda desconhecida, mas os mecanismos pelos quais os fármacos podem afectar a eritropoiese podem incluir, quer o seu efeito direto na síntese de ADN dos precursores de eritrócitos⁽⁵¹⁾, quer a formação de uma resposta imune, na qual se formam anticorpos IgG que inibem especificamente as CFU-E (*erythroid colony-forming unit*) e BFU-E (*erythroid burst-forming unit*), retardando o crescimento das células progenitoras eritrocitárias.⁽⁵²⁾ Após remissão da ARP, em doentes cuja terapia incluía fenitoína e rifampicina, verificou-se que tais inibidores desapareceram do soro.^(52, 53)

Na maior parte dos casos descritos, os fármacos causadores de ARP estão limitados apenas a um ou dois doentes. Por conseguinte, Thompson *et al*⁽⁵⁰⁾ analisaram e avaliaram os casos descritos de AIF e estabeleceram alguns critérios de seriação. Para que um fármaco pudesse ser considerado como causador definitivo de ARP teve que ser reportado, em pelo menos 5 doentes, por pelo menos 3 investigadores diferentes, e obter a classificação causal mínima de provável ou definitivo em pelo menos 1 caso, usando a escala de Naranjo *et al* (Tabela I em anexo).⁽⁵⁴⁾ Verificou-se existir prova suficiente da relação de causalidade entre ARP e a fenitoína, azatriopina e isoniazida.

Fenitoína: A terapia com fenitoína é utilizada frequentemente em doentes epiléticos, e a associação com ARP tem sido bem documentada. Brittingham *et al*⁽⁵⁵⁾ demonstraram que ao reutilizarem a fenitoína várias vezes no mesmo doente induziam aplasia eritróide, a qual revertia após a cessação do fármaco. Alguns estudos investigaram o mecanismo responsável pela ARP associada à fenitoína. Num deles, afirmam que a ARP é causada pela inibição direta da replicação de ADN por este fármaco.⁽⁵⁶⁾ Como já referido anteriormente, numa série estudos *in vitro*⁽⁵²⁾, foi verificado que as IgG purificadas do soro de um doente com ARP associada à fenitoína, suprimia as CFU-E e BFU-E, sendo que esta supressão só acontecia na presença do fármaco. As IgG, por si só, não têm um efeito inibitório, o mesmo

acontecendo com a fenitoína. Assim sendo, estes investigadores concluem que este fármaco provavelmente atua como um hapteno, causando uma ARP, sem qualquer efeito direto tóxico nos precursores eritróides. Dos 12 casos registados na literatura, 7 necessitaram de transfusão sanguínea, e 4 de administração de corticosteróides. O intervalo de tempo de terapia que antecedeu o aparecimento de ARP situava-se entre os 30 dias e 2,5 anos. Em todos os casos, o tratamento envolveu a descontinuação da fenitoína com consequente resolução da anemia, no tempo médio de um mês. É referido ainda que a AIF pode ocorrer mesmo quando os níveis de fenitoína se encontram abaixo da concentração sérica terapêutica.⁽⁵⁷⁾

Azatioprina: A ARP associada à azatioprina (ARP-AZ) tem características relativamente uniformes, desenvolvendo-se muitos anos após o seu uso (média de 6,7 anos) e a recuperação ocorrendo semanas após a cessação da terapia.⁽⁵⁸⁾ À excepção de um caso com esclerodermia, todos os casos foram descritos em doentes transplantados renais. Na maioria deles, a simples paragem da medicação não é eficaz, sendo necessária a introdução de terapia imunossupressora alternativa para atingir a remissão da anemia. O crescimento normal in vitro de colónias de eritrócitos perante o soro do doente^(59, 60), aliado ao facto de se verificar uma expansão clonal de células T grandes granulares (LGL, *large granular lymphocytes*) nos doentes com ARP-AZ, sugere que a ARP poderá ser mediada por linfócitos T auto-reativos.⁽⁶⁰⁾ A ocorrência de ARP-AZ unicamente em transplantados renais deve-se provavelmente ao facto de noutro tipo de transplantes, a azatioprina ter sido substituída por micofenolato e outros agentes anti-proliferativos há mais de uma década.⁽⁶¹⁻⁶³⁾ Apesar do uso de Azatioprina ter vindo a diminuir consideravelmente (87% em 1992 vs 8% em 2000)⁽⁶⁴⁾, com a progressiva substituição por micofenolato, a sua utilização é ainda significativa em alguns países devido, principalmente, a questões económicas.⁽⁶⁵⁾

Isoniazida: Relativamente à ARP induzida pela isoniazida (ARP-ISO), a literatura mostra que todos os 12 casos são encontrados em doentes submetidos a terapêutica contra a tuberculose. A terapia com isoniazida variou entre as 2 semanas e os 20 meses antes do desenvolvimento de ARP.^(50, 66, 67) Todos necessitaram de suporte transfusional, à excepção de dois casos. Em nenhuns dos casos foram administrados corticosteróides, sendo reportado um caso em que foi necessária a utilização de ciclosporina.⁽⁶⁶⁾ Na maioria dos casos, o tempo de recuperação da eritropoiese variou entre os 4 e 35 dias após a paragem da administração de isoniazida⁽⁵⁰⁾, todavia, encontra-se reportado um caso em que tal só sucedeu após cerca de 6 meses.⁽⁶⁷⁾ Apesar do mecanismo patogénico da ARP-ISO ainda ser

desconhecido, espera-se que surjam mais casos nos próximos anos, dada a associação da tuberculose à pandemia mundial do HIV. Por conseguinte, os profissionais de saúde devem estar atentos às reações adversas em doentes com tuberculose, uma vez que a falha na identificação e cessação da isoniazida podem ter consequências fatais.

Aplasia rubra pura pós transplante alogénico de células estaminais hematopoiéticas com incompatibilidade ABO

Atualmente, mais de 30% dos transplantes alogénicos de progenitores hematopoiéticos (TCEH) de dadores relacionados e mais de 50% dos transplantes de dadores não relacionados envolvem incompatibilidade ABO entre dador e recetor.^(68, 69) Em contraste com o sistema HLA, a compatibilidade ABO tem uma importância menor no que diz respeito ao sucesso do TCEH, não aumentando o risco de doença do enxerto contra o hospedeiro (GVHD).⁽⁷⁰⁻⁷²⁾ No entanto, sabe-se que os receptores de TCEH com incompatibilidade ABO têm um risco acrescido de mortalidade⁽⁷³⁾ devido a complicações hematológicas de natureza imune, que incluem hemólise (imediate ou retardada), e com menor frequência, recuperação retardada da eritropoiese, com ARP.^(71, 74)

Na maioria dos doentes sujeitos a TCEH com incompatibilidade ABO major ou bidireccional, a eritropoiese é restabelecida no espaço de 3 semanas, verificando-se reticulócitos no sangue periférico e uma independência transfusional de eritrócitos.⁽⁷⁵⁾ Por outro lado, uma minoria destes doentes (5 a 26%)⁽⁷⁶⁻⁸³⁾ apresenta uma recuperação retardada do enxerto e ARP pós-transplante. Apesar do mecanismo fisiopatológico desta causa de ARP ainda não estar completamente esclarecido, pensa-se que a presença e a persistência de isoaglutininas residuais do receptor dirigidas contra os antígenos ABO de precursores eritrócitários do dador expliquem o seu desenvolvimento.⁽⁸⁴⁾ O desaparecimento gradual das isoaglutininas pós-transplante reflete a normal reatividade do enxerto versus o hospedeiro, eliminando células plasmáticas e linfócitos B.⁽⁸⁵⁾ Nos casos de ARP, esta eliminação pode não ter sido eficaz, tornando a redução dos títulos de isoaglutininas anti-dador muito mais lenta.⁽⁶⁹⁾ De facto, existe uma relação entre a contagem de reticulócitos pós-transplante e os anticorpos anti-A e/ou anti-B anti-dador,^(82, 83) sendo que a recuperação da eritropoiese não ocorre acima de um certo nível destes anticorpos,

com títulos que se situam entre 1:1 a 1:8. ^(70, 86) O risco da aparente persistência das células plasmáticas parece ser maior em transplantes cujos receptores têm idade mais avançada, os dadores são do grupo A, quando são usados alguns regimes de condicionamento pré-transplante não mieloablativos com intensidade reduzida e quando se verifica um inadequado efeito pós-transplante do enxerto contra as células plasmáticas. ⁽⁸⁶⁻⁹¹⁾ Assim sendo, a primeira opção terapêutica pode passar pela redução controlada da imunossupressão pós-transplante para aumentar este efeito. ⁽⁷⁵⁾ Caso isto não se mostre eficaz, têm sido propostas outras estratégias como plasmaferese ⁽⁷⁷⁾, globulina anti-timocítica ⁽⁹²⁾, eritropoetina ⁽⁹³⁻⁹⁵⁾, rituximab ⁽⁹⁶⁾ e a infusão pré-transplante de plasma secretor (de antígenos A/B) do dador. ⁽⁷⁶⁾ No entanto, a maioria destes tratamentos têm sido avaliados em relatos de casos clínicos ou em pequenas séries de casos, pelo que o tratamento otimizado ainda não está definido.

Aplasia rubra pura associada à terapia com eritropoetina

A eritropoetina recombinante humana ou epoetina (HREPO/EPO) é usada desde o final da década de 80 no tratamento de anemias de várias origens, como por exemplo, a anemia secundária à Doença Renal Crónica (DRC), à quimioterapia, a uma variedade de distúrbios da MO, particularmente síndromes mielodisplásicas, ou até devido a infecções por HIV. ^(97, 98) Relativamente à anemia da DRC, a introdução da HREPO α em 1989, e β em 1990, pôs fim à era em que o seu tratamento se baseava fundamentalmente em transfusões sanguíneas. ⁽⁹⁹⁾ Este produto da tecnologia genética e molecular, tem um efeito potente e seletivo na estimulação da eritropoiese, com a ocorrência de apenas alguns efeitos adversos leves a moderados. No entanto, a sua imunogenicidade foi desde cedo reconhecida. ⁽¹⁰⁰⁾ Em humanos, pode ocorrer a formação de anticorpos induzidos pela EPO, os quais neutralizam a HREPO exógena e estabelecem uma reação cruzada com a eritropoetina endógena. Como resultado, a eritropoetina sérica poderá ser indetetável e a eritropoiese tornar-se ineficaz, levando à ocorrência de ARP induzida pela EPO (Epo-ARP). ^(101, 102) Este diagnóstico baseia-se clinicamente na resistência severa ao tratamento da anemia, com uma diminuição da Hb para níveis entre os 5 e os 6 g/dl, ou na dependência transfusional. Após a exclusão de outras causas de hiporresponsividade à HREPO e verificando os

parâmetros compatíveis com ARP, a confirmação do diagnóstico é feita pela presença dos anticorpos neutralizantes anti-Epo.⁽¹⁰³⁾

Apesar do uso universal da HREPO, o desenvolvimento de Epo-ARP manteve-se por muitos anos como uma complicação muito rara, sendo apenas publicados 3 casos até 1998.⁽¹⁰⁴⁻¹⁰⁶⁾ Desde então, o número de casos descritos aumentou acentuadamente. No ano 2002, uma equipa de investigadores franceses publicou uma série de 13 doentes com ARP que foram tratados com HREPO entre 1998 e 2000.⁽¹⁰⁷⁾ Ainda no mesmo ano, a *US Food and Drug Administration* (FDA) reportou um conjunto de 82 casos que ocorreram entre 1997 e 2001.⁽¹⁰⁸⁾ Na maioria destes casos, os doentes foram tratados com Eprex, uma HREPO α produzida fora dos EUA. A Associação Europeia de Diálise e Transplante chegou às mesmas conclusões afirmando que a incidência anual associada a Eprex era a que mais se destacava entre os vários tipos de agentes estimuladores da eritropoiese (AEE).⁽¹⁰⁹⁾ Até ao ano de 2005, foram reportados 215 casos de Epo-ARP: 189 em doentes expostos apenas a Eprex, e 21 com exposição a outra RHEPO.⁽¹¹⁰⁾ Foi possível verificar que o número de casos relatados com Eprex aumentou anualmente, atingindo um pico de incidência entre 2001 e 2002 com cerca de 4,5 casos por 10000 doentes/ano. A partir daí, a incidência diminuiu abruptamente atingindo, em 2003, os 2 casos por 10000 doentes/ano e os 0,5 em 2004.⁽¹¹⁰⁾ Em 2005, verificou-se uma taxa de 0.02-0.03 casos por 10000 doentes/ano, em doentes sujeitos a terapias prolongadas com vários tipos de RHEPO.⁽¹¹¹⁾ Foi também possível verificar que quase metade dos casos foi descrita em França, Canadá, Espanha e Reino Unido.⁽¹¹²⁾

A patologia da formação de anticorpos específicos neutralizantes contra proteínas exógenas é complexa e desenvolve-se em circunstâncias seletivas e imprevisíveis.⁽¹¹³⁾ Apesar da etiologia desta entidade clínica ser ainda desconhecida, diversos fatores podem estar implicados na quebra de auto-tolerância para com a EPO endógena. As características dos doentes, a via de administração, a duração da terapia, bem como a formulação e manuseamento do fármaco podem influenciar o aumento de imunogenicidade:

Caraterísticas dos doentes: Todos os doentes, à excepção de 2 casos com síndrome mielodisplásico⁽¹¹⁴⁾, e recentemente 3 casos associados a hepatite C^(115, 116) são doentes renais crónicos. Nem mesmo em contexto oncológico, no qual há um uso pesado de EPO tal complicação se verifica. Os doentes com cancro serão provavelmente menos susceptíveis de criar uma resposta imune, devido à imunocompetência reduzida e ao menor tempo de duração de exposição ao fármaco.

⁽¹¹⁰⁾ Além da DRC, nenhuma outra entidade clínica se tem destacado em associação com o aumento de risco de desenvolver Epo-ARP. É possível verificar que esta complicação é maior em doentes submetidos a hemodiálise do que em doentes com diálise peritoneal ou em fase conservativa de tratamento. ^(112, 117) No entanto, isto apenas traduz o maior número de doentes em hemodiálise tratado com EPO. O tempo médio de exposição necessário para desenvolver a ARP é de 9 meses para os casos de Eprex, 25 meses para Epogen/Procrit (outra EPO alfa aprovada nos EUA), e 18 meses para EPO beta. ⁽¹¹²⁾

Via de administração: Em 1990, os médicos fora dos EUA optaram, por razões económicas, pela administração de eritropoetina, por via subcutânea em doentes em hemodiálise, em detrimento da via intravenosa. ⁽¹¹⁸⁾ Esta substituição pela via subcutânea precedeu o aumento da incidência dos casos de ARP, especialmente fora dos EUA. Assim, no final de 2002, as autoridades reguladoras contra-indicaram o uso subcutâneo de Eprex na DRC, o que coincidiu cronologicamente com a marcada descida da incidência de ARP desde 2003. É também sabido que geralmente, a administração intravenosa de proteínas é muito menos provável de provocar uma resposta imune do que a via subcutânea. ⁽¹¹⁹⁾ Isto pode dever-se à elevada concentração de células apresentadoras de antigénio na pele, ou devido à menor taxa de reabsorção da proteína administrada. ⁽¹²⁰⁾ Apesar de todos estes argumentos, esta explicação não deve ser considerada como a causa única do problema, uma vez que a incidência de Epo-ARP provocada pela administração por via subcutânea de outros AEE, que não o Eprex, tem se mantido inalterada desde o período de intervenção. Além disso, em alguns países, como na Itália, cujos doentes recebiam Eprex por via subcutânea, a Epo-ARP foi quase nula. ⁽¹¹²⁾ Recentemente, foi descrito um caso em que a ARP surgiu devido à administração exclusivamente intravenosa de epoetina e darbepoetina alfa em ocasiões distintas. ⁽¹²¹⁾

Fatores relacionados com o produto: Em 1998, o Direito da União Europeia ordenou a modificação da composição da Eprex após preocupações geradas à volta da transmissão da doença de Creutzfeld-Jakob. Assim, a albumina sérica humana (ASH) foi substituída pelo polisorbato 80, e esta mudança no excipiente constituiu, à partida, a causa mais óbvia para justificar o pico de incidência de Epo-ARP. ⁽¹¹³⁾

No entanto, a questão exata de como esta alteração na composição do produto levou ao aumento de imunogenicidade, e mais especificamente à perda de auto-tolerância das células B, ainda não está completamente esclarecida. Algumas teorias explicativas têm vindo a ser sugeridas. Uma delas refere que o polisorbato 80, como

qualquer outro surfatante, tem tendência para formar micelas quando um nível crítico de concentração é ultrapassado, como acontece significativamente nas preparações de Eprex. O aumento de imunogenicidade poderia ser resultado da presença de múltiplos epítomos expostos na superfície da micela.⁽¹²²⁾ No entanto, a baixa concentração e o seu carácter instável faz com que as micelas com EPO sejam um mecanismo explicativo questionável, que ainda não foi confirmado por técnicas de espectroscopia. Também esta hipótese é inconsistente com os dados epidemiológicos, visto que tais micelas teriam estado em todas as seringas do produto reformulado.⁽¹¹³⁾

Outra teoria desenvolvida pelo fabricante envolve a interação entre o polisorbato 80 e as rolhas de borracha sem revestimento, que existiam exclusivamente nos êmbolos das seringas de Eprex pré-cheias.⁽¹¹⁰⁾ Desta interação formam-se compostos orgânicos, *leachates*, que poderão atuar como adjuvantes para a ativação da resposta imune, mediada por células T com anticorpos anti-EPO. Como medida de precaução, o fabricante substituiu, em 2003, estas borrachas por outras com um revestimento constituído por Teflon® (Politetrafluoretileno), prevenindo a interação com o polisorbato 80, que se manteve na composição do produto. Contudo, os dados que suportam esta hipótese são escassos, sendo que os *leachates* não mostraram evidência experimental de imunogenicidade.⁽¹¹⁷⁾ Não existe igualmente lógica biológica, visto que os adjuvantes não são capazes de quebrar a tolerância de células B como tem sido mostrado por inúmeros estudos.⁽¹²³⁾ A inconsistência estende-se ainda pela epidemiologia, sendo difícil de explicar o porquê de um fator que estando presente em todas as seringas de Eprex, originou uma condição tão rara e desigualmente distribuída geograficamente.⁽¹²³⁾

Armazenamento e manuseamento do produto: A teoria mais provável de explicar o aumento de Epo-ARP após a mudança na formulação da Eprex, baseia-se na formação de agregados, e é consistente quer com os dados epidemiológicos, quer com os dados experimentais de terapêuticas com outras proteínas.⁽¹²⁴⁾ A formulação sem ASH da HREPO alfa poderá ser mais susceptível à desnaturação ou formação de agregados sob condições de stress, como mudanças drásticas de temperatura, exposição prolongada a luz, ou a agitação excessiva do frasco ou da seringa.⁽¹²⁵⁾ O inadequado manuseamento e armazenamento da eritropoetinas pode ter desempenhado um papel fulcral no surto de ARP, particularmente com o uso subcutâneo, que aumenta a probabilidade de auto-administração fora do contexto hospitalar. Os diferentes métodos de manuseamento podem assim explicar a raridade e distribuição geográfica dos casos de Epo-ARP. Em 2002, os fabricantes introduziram

controles mais apertados durante a produção e transporte dos produtos, com ênfase para o armazenamento a temperaturas entre os 2°C e os 8°C.⁽¹¹⁰⁾ Recentemente, foi sugerido que níveis elevados de tungsténio, que é usado no processo de introdução da agulha na seringa⁽¹²⁶⁾, possam estar implicados na formação de tais agregados.⁽¹²⁶⁾ As seringas e agulhas são normalmente fornecidas por um único distribuidor, podendo também explicar o aparecimento de ARP em múltiplos tipos de AEE.

A diminuição dos casos de Epo-ARP coincidiu cronologicamente com a mudança da via de administração, a melhoria das condições de manuseamento do produto, e com a introdução de revestimento adequado nas borrachas das seringas. Todas estas alterações tornam difícil discriminar a relação de causa-efeito de cada ação isoladamente.

As recomendações terapêuticas em doentes com Epo-ARP com concomitante DRC passam pela cessação da terapia com a RHEPO, correção da anemia com transfusões sanguíneas, e a introdução de terapia imunossupressora⁽¹²⁷⁾, começando apenas com ciclosporina A ou a mesma em combinação com corticosteróides, ou corticosteróides com ciclofosfamida, sendo exetável uma recuperação no prazo de 3 meses.⁽¹¹⁷⁾ O transplante renal assume-se como o tratamento mais eficaz^(117, 127) No futuro, o peginesatide poderá ser uma alternativa ao uso de terapia imunossupressora. Este novo AEE é um agonista dos receptores de EPO, que por ter uma sequência de aminoácidos diferente das RHEPO, não estabelece reação cruzada com os anticorpos anti-Epo, demonstrando boa eficácia na correção dos níveis de Hb.^(128, 129) Em Março de 2012, a FDA aprovou a sua licença para doentes em diálise.⁽⁹⁹⁾

Apesar da incidência dos casos de Epo-ARP ser atualmente baixa, todos os avanços na procura das causas subjacentes são relevantes não só para doentes com DRC, mas sobretudo noutras doenças, em que o uso de terapia com proteínas endógenas tem aumentado significativamente.

Aplasia rubra pura e doenças linfoproliferativas

A ARP secundária pode estar associada a doenças linfoproliferativas, como a Leucemia Linfocítica Crónica (LLC) ou a Linfomas de Hodgkin.⁽¹³⁰⁾ Constitui uma das doenças auto-imunes presentes no decurso de diferentes subtipos histológicos de neoplasias linfoproliferativas, tanto de células B ou T.⁽¹³¹⁾ A ARP pode preceder,

apresentar-se simultaneamente, ou até desenvolver-se após a neoplasia linfóide, quer em casos de reincidência quer mesmo durante a sua remissão.⁽¹³²⁾

No âmbito das doenças linfoproliferativas, as Leucemias de Linfócitos Grandes Granulares (LGL), um tipo de leucemia linfocítica crónica, tem uma relevância particular, na medida em que alguns estudos^(3, 10, 18, 48, 133-135) sugerem que seja a patologia mais comum subjacente a casos secundários de ARP. No estudo conduzido por Go *et al.*⁽¹³⁶⁾, entre 203 doentes com leucemias de LGL, 15 (7%) apresentaram ARP.

As doenças linfoproliferativas de LGL são caracterizadas pelo aumento persistente do número de LGL habitualmente identificados pelo maior tamanho em relação aos linfócitos normais, presença de citoplasma pálido e abundante, e grânulos azurófilos.⁽¹³⁷⁾ Estes linfócitos citotóxicos, que existem normalmente no sangue periférico e que constituem 10-15% dos linfócitos, podem ser classificados em 2 linhagens distintas: LGL-T ou LGL-NK (*natural killer*). Os primeiros expressam CD3 e TCR do tipo $\alpha\beta$ ou $\gamma\delta$. Pelo contrário, os LGL-NK são CD3- não expressando TCR na sua superfície celular e encontram-se em maior número do que as LGL-T, no sangue periférico normal.⁽¹⁾ No entanto, em 85% das LGL a célula leucémica é de linhagem T.⁽¹³⁸⁾ Curiosamente, a ARP é a segunda doença hematológica mais frequente na LGL-T, a seguir à anemia hemolítica auto-imune.⁽¹³⁶⁾

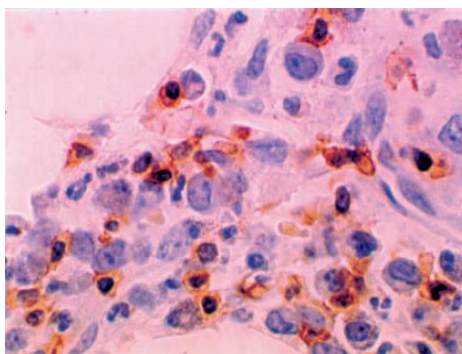


Figura 2. Histologia de biópsia de MO, em doente com Leucemia de LGL e ARP (138)

O desenvolvimento de ARP na LGL poderá ser mediado pelos antígenos do Complexo Major de Histocompatibilidade - HLA (Human Leukocyte Antigens) nos humanos - da classe I (MHC-I), através do ataque citotóxico direto de células T CD8+ aos precursores eritróides da MO (Fig 2). Isto é induzido pela ligação entre o TCR dos LGL-T com o anticorpo ligado à célula alvo, ou através da ligação do CD16 (receptor Fc) presente na superfície dos LGL-T, com um ligando específico para um anticorpo das células alvo.⁽¹³⁹⁾

No entanto, existe um segundo mecanismo, que está relacionado com o facto de as LGL malignas possuírem *Killer Cell Inhibitory Receptors* (KIR), que previnem a citotoxicidade contra células que expressam MHC-I do próprio. Quando as células-alvo expressam antígenos com níveis normais de HLA-1 os KIR inibem a maquinaria lítica das células citotóxicas.⁽¹³⁸⁾ Um exemplo interessante deste mecanismo acontece

perante células tumorais, que frequentemente desenvolvem um mecanismo de fuga que inclui a perda de antígenos HLA-I, e assim evitam o reconhecimento pelas células T CD8+. No entanto, perante os KIR, elas podem ser eliminadas pelos LGL. No caso dos progenitores eritróides, à medida que vão progressivamente perdendo os antígenos HLA-I da sua superfície, faz com que os KIR já não enviem sinais inibitórios para os LGL, o que conduz à destruição dos eritrócitos e consequente ARP. O mesmo não acontece com as células mielóides, uma vez que estas expressam níveis normais de HLA da classe I. ⁽¹⁴⁰⁾ Os KIR também poderão ser responsáveis pela inibição da secreção de linfoquinas, responsáveis pela lise eritrocitária independente das perforinas. ⁽¹⁴¹⁾ Este modelo de falta de inibição, é igualmente válido para os LGL-NK, que apesar de não possuírem TCR, são estimulados por anticorpos contra eritroblastos, ou por outras moléculas expressas por eritrócitos. ⁽¹⁴⁰⁾ Atualmente, não se sabe exatamente quantos casos de proliferações de LGL associados a ARP expressam KIR. Contudo, presume-se que, na maior parte dos casos, os LGL malignos devem expressá-los, uma vez que mesmo nas expansões normais *in vivo* os KIR estão presentes. ⁽¹⁾

Finalmente, foi descrita uma teoria interessante, na qual parece haver um equilíbrio entre os vários graus de expressão do HLA-I na superfície dos possíveis alvos celulares. Assim, enquanto um alelo de HLA-I pode apresentar um péptido antigénico aos LGL-T para a lise, outro alelo do HLA-I pode simultaneamente inibir a citólise pela ligação ao KIR. ⁽¹⁴²⁾

A maioria das proliferações de LGL T e NK associadas à ARP são provavelmente clonais, muito embora as expansões policlonais destas células estejam associadas a auto-imunidade. ⁽¹⁴³⁾ A demonstração molecular de clonalidade pode não ser necessariamente definidora de malignidade, e pode significar dominância de um ou mais clones de LGL dentro de uma população policlonal. ⁽¹⁴⁴⁾ No caso dos LGL-NK, a clonalidade é mais difícil de detetar devido à inexistência de rearranjos dos genes que codificam para o TCR nestas células. ⁽¹³⁵⁾ O diagnóstico de LGL na ARP pode ser pouco aparente, uma vez que a maioria dos doentes não apresenta linfocitose no sangue ou na MO. Assim, esta avaliação deve incluir estudos de citometria de fluxo e rearranjos do gene do TCR, como parte integrante dos testes de rotina em adultos com ARP. ⁽¹³⁸⁾ Por vezes, a histologia de MO de doentes anémicos com expansões de LGL poderá traduzir apenas uma redução da eritropoiese e não uma verdadeira ARP. ⁽¹⁰⁾ Outro ponto importante assenta na ideia de que nem todos os casos de ARP associados com LLG são mediados imunologicamente, uma vez que a consequente

imunodeficiência pode predispor alguns doentes a infecções crónicas por PVB19. O tratamento destes doentes parece responder a quimioterapia citotóxica diretamente contra as expansões de LGL, com ciclofosfamida e/ou ciclosporina A. ⁽¹⁴⁵⁾ No caso da Leucemia Linfocítica Crónica de Células B foi proposto o uso de rituximab na correção eficaz da ARP. ⁽¹⁴⁶⁾

A ARP tem sido igualmente descrita em associação a linfomas malignos, como uma das múltiplas doenças auto-imunes frequentemente constatadas durante o decorrer destas neoplasias. ⁽¹³⁰⁾ Contudo, o número de casos é limitado e o tratamento padrão não se encontra estabelecido. Esta relação é relativamente infrequente, como é evidenciado por um estudo Japonês, em que se verificaram apenas 8 casos de ARP num *coorte* de 112 doentes com ARP secundária a linfoma. ⁽¹³²⁾ Existem 3 potenciais mecanismos explicativos da patogenia da ARP secundária a linfoma. O primeiro considera a ARP como uma síndrome paraneoplásica da doença linfoproliferativa. Outra explicação refere que a terapia citotóxica pode causar um profundo estado de imunossupressão que iniba a imunidade contra infecção por Parvovírus. ⁽¹⁴⁷⁾ Por último, é sugerido que alguns doentes desenvolvam ARP após quimioterapia por mecanismos auto-imunes independentes do linfoma. A revisão da literatura mostra um total de 39 casos relativos a esta associação, em que são relatados 12 tipos histológicos diferentes de linfoma. ⁽¹³¹⁾ Os mais frequentemente relatados são o linfoma B difuso de células grandes e o linfoma T angioimunoblástico, seguido do linfoma B folicular e do linfoma de Hodgkin. O facto do teste de Coombs ser frequentemente positivo sugere um papel importante dos anticorpos auto-reativos nestes doentes. Na maioria dos casos, a quimioterapia e/ou terapia imunossupressora são eficazes na melhoria da anemia. Curiosamente, ao contrário do que acontece com a ARP idiopática, na ARP associada a linfoma consegue-se obter remissão duradoura da anemia mesmo sem manutenção de terapia imunossupressora. ⁽¹³²⁾

Ainda no contexto das neoplasias hematológicas, convém referir que, uma percentagem pequena de casos de ARP idiopática, normalmente refratários ao tratamento, poderá evoluir para Leucemia Aguda ou Síndrome Mielodisplásico. Estes casos devem ser considerados não como parte do Síndrome de ARP, mas sim como um Síndrome Mielodisplásico que morfologicamente se assemelha a ARP. ^(130, 148)

Aplasia rubra pura e doenças auto-imunes

A maioria das doenças do tecido conjuntivo associadas com ARP é de natureza auto-imune. Várias doenças reumatológicas têm sido raramente descritas em associação à ARP, incluindo Artrite Reumatóide ⁽¹⁴⁹⁻¹⁵¹⁾, Doença de Still do Adulto ⁽¹⁵²⁾, Síndrome de Sjögren ⁽¹⁵³⁻¹⁵⁵⁾, Doença Mista do Tecido Conjuntivo ⁽¹⁵⁶⁾, Polimiosite ⁽¹⁵⁷⁾ e Dermatomiosite. ⁽¹⁵⁸⁾ Porém, aquela que mais se destaca na literatura é o Lúpus Eritematoso Sistémico (LES).

Várias doenças hematológicas são comuns no LES. A anemia é encontrada em cerca de 50% dos doentes, sendo a anemia das doenças crónicas a forma mais descrita. ⁽¹⁵⁹⁾ A associação entre o LES e a ARP é uma complicação reconhecida, mas rara, o que pode sugerir que seja sub-diagnosticada. ^(159, 160)

Numa revisão dos 23 casos descritos até o ano de 2000 ⁽¹⁶¹⁾, verifica-se que o LES pode ser diagnosticado antes, depois ou concomitantemente com o diagnóstico de ARP. A clínica e os parâmetros laboratoriais destes doentes não são consideravelmente diferentes dos apresentados pelos com LES, sem ARP, à excepção da pleurite que se mostra significativamente menos frequente. Apesar de estar descrita a inexistência de envolvimento renal e do sistema nervoso nesta associação ⁽¹⁶²⁾, este estudo aponta apenas para uma tendência de menor proteinúria e alucinações, bem como menos trombocitopenia e leucopenia. Em qualquer caso, a apresentação clínica parece não contribuir na determinação de probabilidade desta associação. De facto, os doentes diagnosticados previamente com LES, não apresentaram doença ativa, o que sugere que estes dois fenómenos auto-imunes possam ocorrer independentemente. A ARP responde, na maioria dos casos, ao tratamento inicial recomendado com prednisona, mas geralmente o fármaco tem que ser mantido posteriormente. ⁽¹⁶¹⁾ Em doentes refratários ao tratamento com corticosteróides, têm sido utilizados com sucesso fármacos citotóxicos como a ciclofosfamida agentes imunossupressores como a ciclosporina e rituximab ⁽¹⁶³⁾; a eritropoetina ⁽¹⁶⁴⁾; altas doses de imunoglobulinas intravenosas ⁽¹⁶⁵⁾ e plasmaférese. ⁽¹⁶⁴⁾

Nos casos de LES, a ARP parece ser multifatorial, com atingimento primário da MO ^(166, 167), quer por mecanismos humorais quer celulares. Na maioria dos casos a investigação laboratorial revela, mesmo durante inatividade do LES, a presença de anticorpos inibitórios contra progenitores eritróides, pro-eritroblastos e eritropoetina. Além disso, inúmeros estudos apontam a inibição da hematopoiese mediada por

células T como o maior responsável pela aplasia medular no LES. ⁽¹⁶⁸⁻¹⁷¹⁾ Tem sido sugerido que linfócitos auto-reativos na MO de doentes com LES poderão afetar a capacidade hematopoiética do estroma da MO e, também danificar as células estaminais hematopoiéticas, através do efeito citotóxico direto. Yamasaki *et al* descreveram ainda a atividade supressora *in vitro* de linfócitos T sobre a formação de colónias eritróides em doentes com LES. ^(162, 172) É igualmente sugerido que as doenças hematológicas no LES, incluindo a ARP, além de dependerem da destruição intra-medular, possam estar também relacionadas com processos de apoptose e morte celular programada, em que existem baixos números de células CD34+ e aumento de expressão do receptor Faz. ^(173, 174)

Aplasia rubra pura secundária à gravidez

A ARP induzida pela gravidez (ARPG) é uma entidade clínica distinta, cuja incidência não consegue ser atualmente estimada devido à sua extrema raridade. Até à data estão descritos apenas 16 casos de ARPG num total de 11 grávidas (Tabela II em anexo) A patogénese da ARPG é amplamente desconhecida, sendo que as diferentes investigações *in vitro* ⁽¹⁷⁵⁻¹⁷⁷⁾, que avaliaram o mecanismo que lhe dá origem, diferem de alguma forma. No entanto, todas sugerem um carácter autoimune. Wakabayashi e Takaku sugeriram a presença de um factor inibitório no plasma que afeta a diferenciação eritróide, uma vez que a adição do plasma das suas doentes às culturas de MO causou uma diminuição na síntese do heme. ⁽¹⁷⁵⁾ Itoh *et al* sugeriram um mecanismo autoimune celular, pela demonstração da diminuição da formação de colónias eritróides (CFU-E e BFU-E) por adição de células da placenta e sangue periférico da progenitora a uma MO normal. ⁽¹⁷⁶⁾ O facto de o mesmo não ter acontecido com células sanguíneas do cordão umbilical e do filho, sugere que tal inibição não é transmitida ao feto. A investigação de Baker *et al* revelou uma inibição, consistente com uma resposta humoral autoimune, unicamente de BFU-E, usando soro e IgG purificadas retirados no momento do diagnóstico, não acontecendo o mesmo às 3 semanas pós-parto. ⁽¹⁷⁷⁾

Choudry *et al*, numa análise de todos os casos de ARPG até 2006, apuraram 13 gravidezes em que as progenitoras tinham uma média de 31 anos, abrangendo um espectro de idades que se estendeu desde o início do período fértil (15 anos) até aos 40 anos. ⁽¹⁷⁸⁾ Verificou-se o aparecimento de ARP nos três trimestres de gestação, com

uma Hb de apresentação entre 2,8 g/dl a 9g/dl. Como expetável, todas as avaliações de MO mostraram marcada hipoplasia eritróide, sem anormalidades nas outras linhagens celulares. Quanto ao resultado da gravidez, verificou-se o nascimento de oito crianças saudáveis, todavia cinco resultaram em morte do feto por prematuridade ou outra causa não especificada. Quatro gestações terminaram por cesariana, três por parto vaginal, duas por aborto artificial, e nas restantes quatro o tipo de parto não foi mencionado. Das 10 doentes em estudo, 5 tiveram gravidezes subsequentes. Em três registou-se novamente ARP, uma foi normal e outra terminou com aborto espontâneo sem ARP. Recentemente, Miller e Rashid acrescentaram ainda um caso peculiar de uma doente cuja ARP surge em três gestações consecutivas.⁽¹⁷⁹⁾ Todas as doentes receberam transfusões sanguíneas, e em 6 casos recorreu-se a corticoterapia.

As características destes casos sugerem que as hormonas, possivelmente progestinas, desempenham um papel na fisiopatologia da ARPG. Apesar de não haver nenhuma evidência documentada da inibição da eritropoiese pela progestina, foi colocada a hipótese que a indução de auto-imunidade por mudanças hormonais da gravidez, pudesse desencadear este síndrome em doentes que tenham já uma predisposição para reacções auto-imunes.⁽¹⁷⁸⁾ De facto, existe um caso de uma doente que, entre duas gestações com ARP, manifesta ARP devido à exposição anti-contracetiva prolongada com medroxiprogesterona, cujas alterações hormonais possivelmente mimetizaram um estado “pregnancy-like”.⁽¹⁷⁸⁾

A terapia recomendada baseia-se apenas no suporte transfusional durante a gravidez, uma vez que todas as doentes recuperaram espontaneamente, entre 2 a 12 semanas após o parto.⁽¹⁷⁸⁾ A ARPG é assim uma síndrome auto-limitada, onde a medroxiprogesterona poderá despoletar a aplasia e deverá ser evitada em mulheres com ARPG prévia. Não existe necessidade de corticoterapia e de interrupção da gravidez. Apesar da raridade da ARPG, a sua identificação é importante, na medida em que efeitos adversos para o feto e para a progenitora podem surgir, caso os níveis de Hb não sejam adequadamente corrigidos. A não identificação correta desta síndrome pode ainda conduzir ao uso de terapêuticas para outras causas secundárias de ARP, que neste caso são desnecessárias.

CONCLUSÃO

A presente revisão teve como objetivo analisar e sumarizar o atual conhecimento sobre a patogenia da ARP e as principais causas associadas a ARP secundária. Apesar de ter sido centrada num distúrbio hematológico, foi possível pesquisar, abranger e aprofundar conhecimentos de outras áreas médicas, como a infeciologia, oncologia e reumatologia, entre outras.

Como acontece com qualquer doença rara ou complicação da terapêutica, onde se podem verificar várias co-morbilidade sobrepostas, a identificação correta não só das características da doença, bem como da causa que a origina torna-se difícil e desafiante. Isto, aliado ao facto da doença ter habitualmente um início insidioso, pode fazer com que passe muito tempo até ao reconhecimento desta entidade.

Apesar de a ARP ser uma síndrome clínica bem definida, engloba uma grande variedade clínica e patológica. Este conceito implica que o tratamento deva ser direccionado para a eliminação dos potenciais fatores causais da doença, tendo em conta os mecanismos fisiopatológicos correspondentes. As infeções por PVB19 devem ser excluídas em todos os casos de ARP congénita ou adquirida. Nos doentes com ARP mediada por anticorpos será importante, no futuro, determinar as moléculas que estes reconhecem na superfície dos progenitores eritróides. É ainda mais ambicioso tentar definir quais os epítomos (caso existam) reconhecidos pelos LGL-T nos eritroblastos, podendo obter pistas sobre a auto-imunidade da ARP. Assumindo que os recetores inibitórios para o HLA-I estão envolvidos na patogénese da ARP, nomeadamente nos casos associados a expansões de LGL, estudos adicionais funcionais desses mesmos recetores poderão, eventualmente, traduzir-se em novas terapias, como fármacos que consigam sinalizá-los, sem se ligarem ao TCR, bloqueando seletivamente a função destrutiva dos LGL. Em suma, novas descobertas sobre a patogénese e terapia da ARP, só serão possíveis através da estreita cooperação entre médicos, cientistas, indústria farmacêutica, governantes e doentes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Fisch P, Handgretinger R, Schaefer HE. Pure red cell aplasia. *British journal of haematology*. 2000;111(4):1010-22.
2. Ronald Hoffman M, Edward J. Benz, Jr., MD, Leslie E. Silberstein, MD, Helen Heslop, MD, Jeffrey Weitz, MD, John Anastasi, MD,. *Hematology -Basic Principles and Practice*. 6th ed: Elsevier; 2012 2012.
3. Charles RJ, Sabo KM, Kidd PG, Abkowitz JL. The pathophysiology of pure red cell aplasia: implications for therapy. *Blood*. 1996;87(11):4831-8.
4. Djaldetti M, Blay A, Bergman M, Salman H, Bessler H. Pure red cell aplasia--a rare disease with multiple causes. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*. 2003;57(8):326-32.
5. Jacobs EM, Hutter RV, Pool JL, Ley AB. Benign thymoma and selective erythroid aplasia of the bone marrow. *Cancer*. 1959;12(1):47-57.
6. Rosenow EC, 3rd, Hurley BT. Disorders of the thymus. A review. *Archives of internal medicine*. 1984;144(4):763-70.
7. Holbro A, Jauch A, Lardinois D, Tzankov A, Dirnhofer S, Hess C. High prevalence of infections and autoimmunity in patients with thymoma. *Human immunology*. 2012;73(3):287-90.
8. Lin CS, Yu YB, Hsu HS, Chou TY, Hsu WH, Huang BS. Pure red cell aplasia and hypogammaglobulinemia in a patient with thymoma. *Journal of the Chinese Medical Association : JCMA*. 2009;72(1):34-8.
9. Roland AS. The Syndrome of Benign Thymoma and Primary Aregenerative Anemia; an Analysis of Forty-Three Cases. *The American journal of the medical sciences*. 1964;247:719-31.
10. Lacy MQ, Kurtin PJ, Tefferi A. Pure red cell aplasia: association with large granular lymphocyte leukemia and the prognostic value of cytogenetic abnormalities. *Blood*. 1996;87(7):3000-6.
11. Clark DA, Dessypris EN, Krantz SB. Studies on pure red cell aplasia. XI. Results of immunosuppressive treatment of 37 patients. *Blood*. 1984;63(2):277-86.
12. Masaoka A, Hashimoto T, Shibata K, Yamakawa Y, Nakamae K, Iizuka M. Thymomas associated with pure red cell aplasia. Histologic and follow-up studies. *Cancer*. 1989;64(9):1872-8.
13. Hirst E, Robertson TI. The syndrome of thymoma and erythroblastopenic anemia. A review of 56 cases including 3 case reports. *Medicine*. 1967;46(3):225-64.
14. Kuo T, Shih LY. Histologic types of thymoma associated with pure red cell aplasia: a study of five cases including a composite tumor of organoid thymoma associated with an unusual lipofibroadenoma. *International journal of surgical pathology*. 2001;9(1):29-35.
15. Masuda M, Arai Y, Okamura T, Mizoguchi H. Pure red cell aplasia with thymoma: evidence of T-cell clonal disorder. *American journal of hematology*. 1997;54(4):324-8.
16. Thompson CA, Steensma DP. Pure red cell aplasia associated with thymoma: clinical insights from a 50-year single-institution experience. *British journal of haematology*. 2006;135(3):405-7.
17. Zeok JV, Todd EP, Dillon M, DeSimone P, Utley JR. The role of thymectomy in red cell aplasia. *The Annals of thoracic surgery*. 1979;28(3):257-60.
18. Mamiya S, Itoh T, Miura AB. Acquired pure red cell aplasia in Japan. *European journal of haematology*. 1997;59(4):199-205.

19. Suzuki S, Nogawa S, Tanaka K, Koto A, Fukuuchi Y, Kuwana M. Initial predictors of development of pure red cell aplasia in myasthenia gravis after thymectomy. *Clinical neurology and neurosurgery*. 2003;106(1):16-8.
20. Hirokawa M, Sawada K, Fujishima N, Nakao S, Urabe A, Dan K, et al. Long-term response and outcome following immunosuppressive therapy in thymoma-associated pure red cell aplasia: a nationwide cohort study in Japan by the PRCA collaborative study group. *Haematologica*. 2008;93(1):27-33.
21. Cohen BJ, Buckley MM. The prevalence of antibody to human parvovirus B19 in England and Wales. *Journal of medical microbiology*. 1988;25(2):151-3.
22. Frickhofen N, Chen ZJ, Young NS, Cohen BJ, Heimpel H, Abkowitz JL. Parvovirus B19 as a cause of acquired chronic pure red cell aplasia. *British journal of haematology*. 1994;87(4):818-24.
23. Kurtzman G, Frickhofen N, Kimball J, Jenkins DW, Nienhuis AW, Young NS. Pure red-cell aplasia of 10 years' duration due to persistent parvovirus B19 infection and its cure with immunoglobulin therapy. *The New England journal of medicine*. 1989;321(8):519-23.
24. Brown KE, Young NS. Parvovirus B19 infection and hematopoiesis. *Blood reviews*. 1995;9(3):176-82.
25. Potter CG, Potter AC, Hatton CS, Chapel HM, Anderson MJ, Pattison JR, et al. Variation of erythroid and myeloid precursors in the marrow and peripheral blood of volunteer subjects infected with human parvovirus (B19). *The Journal of clinical investigation*. 1987;79(5):1486-92.
26. Kelleher JF, Luban NL, Mortimer PP, Kamimura T. Human serum "parvovirus": a specific cause of aplastic crisis in children with hereditary spherocytosis. *The Journal of pediatrics*. 1983;102(5):720-2.
27. Smith MA, Shah NS, Lobel JS. Parvovirus B19 infection associated with reticulocytopenia and chronic autoimmune hemolytic anemia. *The American journal of pediatric hematology/oncology*. 1989;11(2):167-9.
28. Brownell AI, McSwiggan DA, Cubitt WD, Anderson MJ. Aplastic and hypoplastic episodes in sickle cell disease and thalassaemia intermedia. *Journal of clinical pathology*. 1986;39(2):121-4.
29. Nagai K, Morohoshi T, Kudoh T, Yoto Y, Suzuki N, Matsunaga Y. Transient erythroblastopenia of childhood with megakaryocytopenia associated with human parvovirus B19 infection. *British journal of haematology*. 1992;80(1):131-2.
30. Saunders PW, Reid MM, Cohen BJ. Human parvovirus induced cytopenias: a report of five cases. *British journal of haematology*. 1986;63(2):407-10.
31. Gasser C. [Acute erythroblastopenia in hemolytic anemia]. *Le Sang*. 1950;21(3):237-45.
32. Schaefer HE. Aplastic crisis in haemolytic anaemia due to infection parvovirus B19. *Pathology, research and practice*. 1992;188(6):817-23.
33. Koch WC, Massey G, Russell CE, Adler SP. Manifestations and treatment of human parvovirus B19 infection in immunocompromised patients. *The Journal of pediatrics*. 1990;116(3):355-9.
34. Krause JR, Panchansky L, Knisely AS. Morphological diagnosis of parvovirus B19 infection. A cytopathic effect easily recognized in air-dried, formalin-fixed bone marrow smears stained with hematoxylin-eosin or Wright-Giemsa. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 1992;116(2):178-80.
35. Mouthon L, Guillevin L, Tellier Z. Intravenous immunoglobulins in autoimmune- or parvovirus B19-mediated pure red-cell aplasia. *Autoimmunity reviews*. 2005;4(5):264-9.
36. Brown KE, Young NS. Parvoviruses and bone marrow failure. *Stem cells*. 1996;14(2):151-63.

37. Crabol Y, Terrier B, Rozenberg F, Pestre V, Legendre C, Hermine O, et al. Intravenous immunoglobulin therapy for pure red cell aplasia related to human parvovirus b19 infection: a retrospective study of 10 patients and review of the literature. *Clinical infectious diseases* : an official publication of the Infectious Diseases Society of America. 2013;56(7):968-77.
38. Nour B, Green M, Michaels M, Reyes J, Tzakis A, Gartner JC, et al. Parvovirus B19 infection in pediatric transplant patients. *Transplantation*. 1993;56(4):835-8.
39. Tanri R, Nishimura H, Nakamura K, Ogasawara M, Akiyama K, Makino T, et al. [A case of acute hepatitis A complicated with acute pure red cell aplasia]. *Nihon Naika Gakkai zasshi The Journal of the Japanese Society of Internal Medicine*. 1990;79(7):947-8.
40. Tomida S, Matsuzaki Y, Nishi M, Ikegami T, Chiba T, Abei M, et al. Severe acute hepatitis A associated with acute pure red cell aplasia. *Journal of gastroenterology*. 1996;31(4):612-7.
41. Chehal A, Sharara AI, Haidar HA, Haidar J, Bazarbachi A. Acute viral hepatitis A and parvovirus B19 infections complicated by pure red cell aplasia and autoimmune hemolytic anemia. *Journal of hepatology*. 2002;37(1):163-5.
42. Ide T, Sata M, Nouno R, Yamashita F, Nakano H, Tanikawa K. Clinical evaluation of four cases of acute viral hepatitis complicated by pure red cell aplasia. *The American journal of gastroenterology*. 1994;89(2):257-62.
43. Koiso H, Kobayashi S, Ueki K, Hamada T, Tsukamoto N, Karasawa M, et al. Pure red cell aplasia accompanied by autoimmune hemolytic anemia in a patient with type A viral hepatitis. [Rinsho ketsueki] *The Japanese journal of clinical hematology*. 2009;50(5):424-9.
44. al-Awami Y, Sears DA, Carrum G, Udden MM, Alter BP, Conlon CL. Pure red cell aplasia associated with hepatitis C infection. *The American journal of the medical sciences*. 1997;314(2):113-7.
45. Ramos-Casals M, Garcia-Carrasco M, Lopez-Medrano F, Trejo O, Forns X, Lopez-Guillermo A, et al. Severe autoimmune cytopenias in treatment-naïve hepatitis C virus infection: clinical description of 35 cases. *Medicine*. 2003;82(2):87-96.
46. Socinski MA, Ershler WB, Tosato G, Blaese RM. Pure red blood cell aplasia associated with chronic Epstein-Barr virus infection: evidence for T cell-mediated suppression of erythroid colony forming units. *The Journal of laboratory and clinical medicine*. 1984;104(6):995-1006.
47. Sao H, Yoshikawa H, Akao Y, Hiraiwa A, Takagi S, Yamauchi T, et al. [An adult case of acute erythroblastopenia]. [Rinsho ketsueki] *The Japanese journal of clinical hematology*. 1982;23(9):1453-7.
48. Levitt LJ, Reyes GR, Moonka DK, Bensch K, Miller RA, Engleman EG. Human T cell leukemia virus-I-associated T-suppressor cell inhibition of erythropoiesis in a patient with pure red cell aplasia and chronic T gamma-lymphoproliferative disease. *The Journal of clinical investigation*. 1988;81(2):538-48.
49. Dessypris EN. The biology of pure red cell aplasia. *Seminars in hematology*. 1991;28(4):275-84.
50. Thompson DF, Gales MA. Drug-induced pure red cell aplasia. *Pharmacotherapy*. 1996;16(6):1002-8.
51. Salama A, Mueller-Eckhardt C. Immune-mediated blood cell dyscrasias related to drugs. *Seminars in hematology*. 1992;29(1):54-63.
52. Dessypris EN, Redline S, Harris JW, Krantz SB. Diphenylhydantoin-induced pure red cell aplasia. *Blood*. 1985;65(4):789-94.
53. Mariette X, Mitjavila MT, Moulinie JP, Bussel A, Brouet JC, Vainchenker W, et al. Rifampicin-induced pure red cell aplasia. *The American journal of medicine*. 1989;87(4):459-60.

54. Naranjo CA, Busto U, Sellers EM, Sandor P, Ruiz I, Roberts EA, et al. A method for estimating the probability of adverse drug reactions. *Clinical pharmacology and therapeutics*. 1981;30(2):239-45.
55. Brittingham TE, Lutchter CL, Murphy DL. Reversible Erythroid Aplasia Induced by Diphenylhydantoin. *Archives of internal medicine*. 1964;113:764-8.
56. Yunis AA, Arimura GK, Lutchter CL, Blasquez J, Halloran M. Biochemical lesion in Dilantin-induced erythroid aplasia. *Blood*. 1967;30(5):587-600.
57. Sugaya A, Nakamagoe K, Okoshi Y, Obata-Yasuoka M, Tamaoka A. Diphenylhydantoin-induced severe yet reversible anemia during pregnancy. *Internal medicine*. 2010;49(22):2515-8.
58. Koduri PR, Vanajakshi S, Anuradha R. Azathioprine-associated pure red cell aplasia in renal transplant recipients: a report of two cases. *Annals of hematology*. 2013.
59. Creemers GJ, van Boven WP, Lowenberg B, van der Heul C. Azathioprine-associated pure red cell aplasia. *Journal of internal medicine*. 1993;233(1):85-7.
60. Zuber J, Beldjord K, Casadevall N, Thervet E, Legendre C, Varet B. Immune-mediated pure red cell aplasia in renal transplant recipients. *Haematologica*. 2008;93(11):1750-2.
61. Helderman JH, Bennett WM, Cibrik DM, Kaufman DB, Klein A, Takemoto SK. Immunosuppression: practice and trends. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 2003;3 Suppl 4:41-52.
62. Pillai AA, Levitsky J. Overview of immunosuppression in liver transplantation. *World journal of gastroenterology : WJG*. 2009;15(34):4225-33.
63. Taylor DO. Cardiac transplantation: drug regimens for the 21st century. *The Annals of thoracic surgery*. 2003;75(6 Suppl):S72-8.
64. Shapiro R, Young JB, Milford EL, Trotter JF, Bustami RT, Leichtman AB. Immunosuppression: evolution in practice and trends, 1993-2003. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 2005;5(4 Pt 2):874-86.
65. Bansal SB, Saxena V, Pokhariyal S, Gupta P, Kher V, Ahlawat R, et al. Comparison of azathioprine with mycophenolate mofetil in a living donor kidney transplant programme. *Indian journal of nephrology*. 2011;21(4):258-63.
66. Loulergue P, Mir O, Dhote R. Pure red blood cell aplasia and isoniazid use. *Emerging infectious diseases*. 2007;13(9):1427-8.
67. Nakamura H, Okada A, Kawakami A, Yamasaki S, Ida H, Motomura M, et al. Isoniazid-triggered pure red cell aplasia in systemic lupus erythematosus complicated with myasthenia gravis. *Rheumatology international*. 2010;30(12):1643-5.
68. Kimura F, Sato K, Kobayashi S, Ikeda T, Sao H, Okamoto S, et al. Impact of ABO-blood group incompatibility on the outcome of recipients of bone marrow transplants from unrelated donors in the Japan Marrow Donor Program. *Haematologica*. 2008;93(11):1686-93.
69. Mielcarek M, Leisenring W, Torok-Storb B, Storb R. Graft-versus-host disease and donor-directed hemagglutinin titers after ABO-mismatched related and unrelated marrow allografts: evidence for a graft-versus-plasma cell effect. *Blood*. 2000;96(3):1150-6.
70. Gmur JP, Burger J, Schaffner A, Neftel K, Oelz O, Frey D, et al. Pure red cell aplasia of long duration complicating major ABO-incompatible bone marrow transplantation. *Blood*. 1990;75(1):290-5.
71. Buckner CD, Clift RA, Sanders JE, Williams B, Gray M, Storb R, et al. ABO-incompatible marrow transplants. *Transplantation*. 1978;26(4):233-8.
72. Gale RP, Feig S, Ho W, Falk P, Rippee C, Sparkes R. ABO blood group system and bone marrow transplantation. *Blood*. 1977;50(2):185-94.

73. Benjamin RJ, McGurk S, Ralston MS, Churchill WH, Antin JH. ABO incompatibility as an adverse risk factor for survival after allogeneic bone marrow transplantation. *Transfusion*. 1999;39(2):179-87.
74. Lasky LC, Warkentin PI, Kersey JH, Ramsay NK, McGlave PB, McCullough J. Hemotherapy in patients undergoing blood group incompatible bone marrow transplantation. *Transfusion*. 1983;23(4):277-85.
75. Stussi G, Halter J, Schanz U, Seebach JD. ABO-histo blood group incompatibility in hematopoietic stem cell and solid organ transplantation. *Transfusion and apheresis science : official journal of the World Apheresis Association : official journal of the European Society for Haemapheresis*. 2006;35(1):59-69.
76. Curley C, Pillai E, Mudie K, Western R, Hutchins C, Durrant S, et al. Outcomes after major or bidirectional ABO-mismatched allogeneic hematopoietic progenitor cell transplantation after pretransplant isoagglutinin reduction with donor-type secretor plasma with or without plasma exchange. *Transfusion*. 2012;52(2):291-7.
77. Stussi G, Halter J, Bucheli E, Valli PV, Seebach L, Gmur J, et al. Prevention of pure red cell aplasia after major or bidirectional ABO blood group incompatible hematopoietic stem cell transplantation by pretransplant reduction of host anti-donor isoagglutinins. *Haematologica*. 2009;94(2):239-48.
78. Huang XJ, Liu DH, Xu LP, Han W, Jiang Q, Chen YH, et al. [Pure red cell aplasia following major ABO-incompatible allogeneic hematopoietic stem cell transplantation]. *Zhonghua xue ye xue za zhi = Zhonghua xueyexue zazhi*. 2005;26(9):548-50.
79. Worel N, Greinix HT, Schneider B, Kurz M, Rabitsch W, Knobl P, et al. Regeneration of erythropoiesis after related- and unrelated-donor BMT or peripheral blood HPC transplantation: a major ABO mismatch means problems. *Transfusion*. 2000;40(5):543-50.
80. Sniecinski IJ, Oien L, Petz LD, Blume KG. Immunohematologic consequences of major ABO-mismatched bone marrow transplantation. *Transplantation*. 1988;45(3):530-4.
81. Wiesneth M, Hertenstein B, Bunjes D, Schmeiser T, Maccari B, Northoff H, et al. ABO-incompatible bone marrow transplantation. *Beiträge zur Infusionstherapie = Contributions to infusion therapy*. 1992;30:354-8.
82. Helbig G, Stella-Holowiecka B, Wojnar J, Krawczyk M, Krzemien S, Wojciechowska-Sadus M, et al. Pure red-cell aplasia following major and bi-directional ABO-incompatible allogeneic stem-cell transplantation: recovery of donor-derived erythropoiesis after long-term treatment using different therapeutic strategies. *Annals of hematology*. 2007;86(9):677-83.
83. Zhu KE, Li JP, Zhang T, Zhong J, Chen J. Clinical features and risk factors of pure red cell aplasia following major ABO-incompatible allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Hematology*. 2007;12(2):117-21.
84. Lee JH, Lee JH, Choi SJ, Kim S, Seol M, Kwon SW, et al. Changes of isoagglutinin titres after ABO-incompatible allogeneic stem cell transplantation. *British journal of haematology*. 2003;120(4):702-10.
85. Rowley SD, Donato ML, Bhattacharyya P. Red blood cell-incompatible allogeneic hematopoietic progenitor cell transplantation. *Bone marrow transplantation*. 2011;46(9):1167-85.
86. Griffith LM, McCoy JP, Jr., Bolan CD, Stroncek DF, Pickett AC, Linton GF, et al. Persistence of recipient plasma cells and anti-donor isohaemagglutinins in patients with delayed donor erythropoiesis after major ABO incompatible non-myeloablative haematopoietic cell transplantation. *British journal of haematology*. 2005;128(5):668-75.
87. Bolan CD, Leitman SF, Griffith LM, Wesley RA, Procter JL, Stroncek DF, et al. Delayed donor red cell chimerism and pure red cell aplasia following major ABO-incompatible nonmyeloablative hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*. 2001;98(6):1687-94.

88. Dahl D, Hahn A, Koenecke C, Heuft HG, Dammann E, Stadler M, et al. Prolonged isolated red blood cell transfusion requirement after allogeneic blood stem cell transplantation: identification of patients at risk. *Transfusion*. 2010;50(3):649-55.
89. Helbig G, Stella-Holowiecka B, Krawczyk-Kulis M, Wojnar J, Markiewicz M, Wojciechowska-Sadus M, et al. Successful treatment of pure red cell aplasia with repeated, low doses of rituximab in two patients after ABO-incompatible allogeneic haematopoietic stem cell transplantation for acute myeloid leukaemia. *Haematologica*. 2005;90 Suppl:ECR33.
90. Maciej Zaucha J, Mielcarek M, Takatu A, Little MT, Gooley T, Baker J, et al. Engraftment of early erythroid progenitors is not delayed after non-myeloablative major ABO-incompatible haematopoietic stem cell transplantation. *British journal of haematology*. 2002;119(3):740-50.
91. Schetelig J, Breitschaft A, Kroger N, Zabelina T, Ebell W, Bornhauser M, et al. After major ABO-mismatched allogeneic hematopoietic progenitor cell transplantation, erythroid engraftment occurs later in patients with donor blood group A than donor blood group B. *Transfusion*. 2005;45(5):779-87.
92. Bierman PJ, Warkentin P, Hutchins MR, Klassen LW. Pure red cell aplasia following ABO mismatched marrow transplantation for chronic lymphocytic leukemia: response to antithymocyte globulin. *Leukemia & lymphoma*. 1993;9(1-2):169-71.
93. Heyll A, Aul C, Runde V, Arning M, Schneider W, Wernet P. Treatment of pure red cell aplasia after major ABO-incompatible bone marrow transplantation with recombinant erythropoietin. *Blood*. 1991;77(4):906.
94. Paltiel O, Cournoyer D, Rybka W. Pure red cell aplasia following ABO-incompatible bone marrow transplantation: response to erythropoietin. *Transfusion*. 1993;33(5):418-21.
95. Santamaria A, Sureda A, Martino R, Domingo-Albos A, Muniz-Diaz E, Brunet S. Successful treatment of pure red cell aplasia after major ABO-incompatible T cell-depleted bone marrow transplantation with erythropoietin. *Bone marrow transplantation*. 1997;20(12):1105-7.
96. Blin N, Traineau R, Houssin S, Peffault de Latour R, Petropoulou A, Robin M, et al. Impact of donor-recipient major ABO mismatch on allogeneic transplantation outcome according to stem cell source. *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*. 2010;16(9):1315-23.
97. Case DC, Jr., Bukowski RM, Carey RW, Fishkin EH, Henry DH, Jacobson RJ, et al. Recombinant human erythropoietin therapy for anemic cancer patients on combination chemotherapy. *Journal of the National Cancer Institute*. 1993;85(10):801-6.
98. Eschbach JW, Abdulhadi MH, Browne JK, Delano BG, Downing MR, Egrie JC, et al. Recombinant human erythropoietin in anemic patients with end-stage renal disease. Results of a phase III multicenter clinical trial. *Annals of internal medicine*. 1989;111(12):992-1000.
99. Biggar P, Ketteler M. ESA therapy - the quest continues: anemia treatment following recent national and international recommendations 2011 and 2012. *Clinical nephrology*. 2013;79(5):335-50.
100. Garcia JF, Sherwood J, Goldwasser E. Radioimmunoassay of erythropoietin. *Blood cells*. 1979;5(3):405-19.
101. Casadevall N. Antibodies against rHuEPO: native and recombinant. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2002;17 Suppl 5:42-7.
102. Swanson SJ, Ferbas J, Mayeux P, Casadevall N. Evaluation of methods to detect and characterize antibodies against recombinant human erythropoietin. *Nephron Clinical practice*. 2004;96(3):c88-95.

103. Pollock C, Johnson DW, Horl WH, Rossert J, Casadevall N, Schellekens H, et al. Pure red cell aplasia induced by erythropoiesis-stimulating agents. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN*. 2008;3(1):193-9.
104. Bergrem H DB, Eckardt KU, Kurtz A, Stridsberg M. A case of antierythropoietin antibodies following recombinant human erythropoietin treatment. Bauer C KK, Scigalla P, Wieczorek L, editor. New York: Marcel Dekker; 1993.
105. Peces R, de la Torre M, Alcazar R, Urra JM. Antibodies against recombinant human erythropoietin in a patient with erythropoietin-resistant anemia. *The New England journal of medicine*. 1996;335(7):523-4.
106. Prabhakar SS, Muhlfelder T. Antibodies to recombinant human erythropoietin causing pure red cell aplasia. *Clinical nephrology*. 1997;47(5):331-5.
107. Casadevall N, Nataf J, Viron B, Kolta A, Kiladjian JJ, Martin-Dupont P, et al. Pure red-cell aplasia and antierythropoietin antibodies in patients treated with recombinant erythropoietin. *The New England journal of medicine*. 2002;346(7):469-75.
108. Gershon SK, Luksenburg H, Cote TR, Braun MM. Pure red-cell aplasia and recombinant erythropoietin. *The New England journal of medicine*. 2002;346(20):1584-6; author reply -6.
109. Locatelli F, Aljama P, Barany P, Canaud B, Carrera F, Eckardt KU, et al. Erythropoiesis-stimulating agents and antibody-mediated pure red-cell aplasia: here are we now and where do we go from here? *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2004;19(2):288-93.
110. Locatelli F, Del Vecchio L, Pozzoni P. Pure red-cell aplasia "epidemic"--mystery completely revealed? *Peritoneal dialysis international : journal of the International Society for Peritoneal Dialysis*. 2007;27 Suppl 2:S303-7.
111. McKoy JM, Stonecash RE, Cournoyer D, Rossert J, Nissenson AR, Raisch DW, et al. Epoetin-associated pure red cell aplasia: past, present, and future considerations. *Transfusion*. 2008;48(8):1754-62.
112. Bennett CL, Luminari S, Nissenson AR, Tallman MS, Klinge SA, McWilliams N, et al. Pure red-cell aplasia and epoetin therapy. *The New England journal of medicine*. 2004;351(14):1403-8.
113. Macdougall IC, Roger SD, de Francisco A, Goldsmith DJ, Schellekens H, Ebbers H, et al. Antibody-mediated pure red cell aplasia in chronic kidney disease patients receiving erythropoiesis-stimulating agents: new insights. *Kidney international*. 2012;81(8):727-32.
114. Rossert J, Casadevall N, Eckardt KU. Anti-erythropoietin antibodies and pure red cell aplasia. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2004;15(2):398-406.
115. PRCA update [updated April 10, 2009]. Available from: <http://www.amgen.com/patients/prca.html>.
116. Schechter JM, Mears JG, Alobeid B, Gaglio PJ. Anti-erythropoietin antibody-mediated pure red cell aplasia in a living donor liver transplant recipient treated for hepatitis C virus. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. 2007;13(11):1589-92.
117. Verhelst D, Rossert J, Casadevall N, Kruger A, Eckardt KU, Macdougall IC. Treatment of erythropoietin-induced pure red cell aplasia: a retrospective study. *Lancet*. 2004;363(9423):1768-71.
118. Kaufman JS. Subcutaneous erythropoietin therapy: efficacy and economic implications. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*. 1998;32(6 Suppl 4):S147-51.

119. Porter S. Human immune response to recombinant human proteins. *Journal of pharmaceutical sciences*. 2001;90(1):1-11.
120. Jahn EM, Schneider CK. How to systematically evaluate immunogenicity of therapeutic proteins - regulatory considerations. *New biotechnology*. 2009;25(5):280-6.
121. Shimizu H, Saitoh T, Ota F, Jimbo T, Tsukada Y, Murakami H, et al. Pure red cell aplasia induced only by intravenous administration of recombinant human erythropoietin. *Acta haematologica*. 2011;126(2):114-8.
122. Hermeling S, Schellekens H, Crommelin DJ, Jiskoot W. Micelle-associated protein in epoetin formulations: a risk factor for immunogenicity? *Pharmaceutical research*. 2003;20(12):1903-7.
123. Schellekens H. Lesson learned from Eprex-associated pure red cell aplasia. *Kidney & blood pressure research*. 2007;30 Suppl 1:9-12.
124. Sauerborn M, Brinks V, Jiskoot W, Schellekens H. Immunological mechanism underlying the immune response to recombinant human protein therapeutics. *Trends in pharmacological sciences*. 2010;31(2):53-9.
125. Brinks V, Hawe A, Basmeleh AH, Joachin-Rodriguez L, Haselberg R, Somsen GW, et al. Quality of original and biosimilar epoetin products. *Pharmaceutical research*. 2011;28(2):386-93.
126. Seidl A, Hainzl O, Richter M, Fischer R, Bohm S, Deutel B, et al. Tungsten-induced denaturation and aggregation of epoetin alfa during primary packaging as a cause of immunogenicity. *Pharmaceutical research*. 2012;29(6):1454-67.
127. Rossert J, Macdougall I, Casadevall N. Antibody-mediated pure red cell aplasia (PRCA) treatment and re-treatment: multiple options. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2005;20 Suppl 4:iv23-6.
128. Macdougall IC. New anemia therapies: translating novel strategies from bench to bedside. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*. 2012;59(3):444-51.
129. Del Vecchio L, Cavalli A, Tucci B, Locatelli F. Chronic kidney disease-associated anemia: new remedies. *Current opinion in investigational drugs*. 2010;11(9):1030-8.
130. EN D. Pure Red Cell Aplasia. The Johns Hopkins University Press, Baltimore, London. 1988: 41-113.
131. Vlachaki E, Diamantidis MD, Klonizakis P, Haralambidou-Vranitsa S, Ioannidou-Papagiannaki E, Klonizakis I. Pure red cell aplasia and lymphoproliferative disorders: an infrequent association. *TheScientificWorldJournal*. 2012;2012:475313.
132. Hirokawa M, Sawada K, Fujishima N, Kawano F, Kimura A, Watanabe T, et al. Acquired pure red cell aplasia associated with malignant lymphomas: a nationwide cohort study in Japan for the PRCA Collaborative Study Group. *American journal of hematology*. 2009;84(3):144-8.
133. Sawada K, Hirokawa M, Fujishima N, Teramura M, Bessho M, Dan K, et al. Long-term outcome of patients with acquired primary idiopathic pure red cell aplasia receiving cyclosporine A. A nationwide cohort study in Japan for the PRCA Collaborative Study Group. *Haematologica*. 2007;92(8):1021-8.
134. Abkowitz JL, Powell JS, Nakamura JM, Kadin ME, Adamson JW. Pure red cell aplasia: response to therapy with anti-thymocyte globulin. *American journal of hematology*. 1986;23(4):363-71.
135. Tefferi A, Witzig TE, Reid JM, Li CY, Ames MM. Phase I study of combined 2-chlorodeoxyadenosine and chlorambucil in chronic lymphoid leukemia and low-grade lymphoma. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 1994;12(3):569-74.

136. Go RS, Li CY, Tefferi A, Phyllyk RL. Acquired pure red cell aplasia associated with lymphoproliferative disease of granular T lymphocytes. *Blood*. 2001;98(2):483-5.
137. Oshimi K, Yamada O, Kaneko T, Nishinarita S, Iizuka Y, Urabe A, et al. Laboratory findings and clinical courses of 33 patients with granular lymphocyte-proliferative disorders. *Leukemia*. 1993;7(6):782-8.
138. Rose MG, Berliner N. T-cell large granular lymphocyte leukemia and related disorders. *The oncologist*. 2004;9(3):247-58.
139. Loughran TP, Jr., Starkebaum G. Large granular lymphocyte leukemia. Report of 38 cases and review of the literature. *Medicine*. 1987;66(5):397-405.
140. Handgretinger R, Geiselhart A, Moris A, Grau R, Teuffel O, Bethge W, et al. Pure red-cell aplasia associated with clonal expansion of granular lymphocytes expressing killer-cell inhibitory receptors. *The New England journal of medicine*. 1999;340(4):278-84.
141. D'Andrea A, Chang C, Phillips JH, Lanier LL. Regulation of T cell lymphokine production by killer cell inhibitory receptor recognition of self HLA class I alleles. *The Journal of experimental medicine*. 1996;184(2):789-94.
142. Ikeda H, Lethé B, Lehmann F, Van Baren N, Baurain J-F, De Smet C, et al. Characterization of an Antigen That Is Recognized on a Melanoma Showing Partial HLA Loss by CTL Expressing an NK Inhibitory Receptor. *Immunity*. 1997;6(2):199-208.
143. Loughran TP, Jr. Clonal diseases of large granular lymphocytes. *Blood*. 1993;82(1):1-14.
144. Maini MK, Casorati G, Dellabona P, Wack A, Beverley PC. T-cell clonality in immune responses. *Immunology today*. 1999;20(6):262-6.
145. Fujishima N, Sawada K, Hirokawa M, Oshimi K, Sugimoto K, Matsuda A, et al. Long-term responses and outcomes following immunosuppressive therapy in large granular lymphocyte leukemia-associated pure red cell aplasia: a Nationwide Cohort Study in Japan for the PRCA Collaborative Study Group. *Haematologica*. 2008;93(10):1555-9.
146. Narra K, Borghaei H, Al-Saleem T, Høglund M, Smith MR. Pure red cell aplasia in B-cell lymphoproliferative disorder treated with rituximab: report of two cases and review of the literature. *Leukemia research*. 2006;30(1):109-14.
147. Frickhofen N, Abkowitz JL, Safford M, Berry JM, Antunez-de-Mayolo J, Astrow A, et al. Persistent B19 parvovirus infection in patients infected with human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1): a treatable cause of anemia in AIDS. *Annals of internal medicine*. 1990;113(12):926-33.
148. Dessypris EN, Fogo A, Russell M, Engel E, Krantz SB. Studies on pure red cell aplasia. X. Association with acute leukemia and significance of bone marrow karyotype abnormalities. *Blood*. 1980;56(3):421-6.
149. Dessypris EN, Baer MR, Sergeant JS, Krantz SB. Rheumatoid arthritis and pure red cell aplasia. *Annals of internal medicine*. 1984;100(2):202-6.
150. Tsai CY, Yu CL, Tsai YY, Kung YY, Wu TH, Tsai ST. Pure red cell aplasia in a man with RA. *Scandinavian journal of rheumatology*. 1997;26(4):329-31.
151. Rodrigues JF, Harth M, Barr RM. Pure red cell aplasia in rheumatoid arthritis. *The Journal of rheumatology*. 1988;15(7):1159-61.
152. Chung JW, Suh YJ, Song HJ, Choi JH, Park HS, Cho SR, et al. Pure red cell aplasia and adult-onset Still's disease. *Clinical rheumatology*. 2004;23(4):368-70.
153. Cavazzana I, Ceribelli A, Franceschini F, Cattaneo R. Unusual association between pure red cell aplasia and primary Sjogren's syndrome: a case report. *Clinical and experimental rheumatology*. 2007;25(2):309-11.
154. Mavragani CP, Vlachaki E, Voulgarelis M. Pure red cell aplasia in a Sjogren's syndrome/lupus erythematosus overlap patient. *American journal of hematology*. 2003;72(4):259-62.

155. Fujii K, Kanno R, Shio Y, Ohsugi J, Nozawa Y, Gotoh M. Triad of thymoma, myasthenia gravis and pure red cell aplasia combined with Sjogren's syndrome. The Japanese journal of thoracic and cardiovascular surgery : official publication of the Japanese Association for Thoracic Surgery = Nihon Kyobu Geka Gakkai zasshi. 2004;52(7):345-8.
156. Julkunen H, Jantti J, Pettersson T. Pure red cell aplasia in mixed connective tissue disease. The Journal of rheumatology. 1989;16(10):1385-6.
157. Katabami S, Sugiyama T, Kodama T, Kamiyo K, Azuma N, Tamaki T, et al. Polymyositis associated with thymoma and the subsequent development of pure red cell aplasia. Internal medicine. 1995;34(6):569-73.
158. Fong PH, Wee A, Chan HL, Tan YO. Primary thymic carcinoma and its association with dermatomyositis and pure red cell aplasia. International journal of dermatology. 1992;31(6):426-8.
159. Giannouli S, Voulgarelis M, Ziakas PD, Tzioufas AG. Anaemia in systemic lupus erythematosus: from pathophysiology to clinical assessment. Annals of the rheumatic diseases. 2006;65(2):144-8.
160. Sawada K, Fujishima N, Hirokawa M. Acquired pure red cell aplasia: updated review of treatment. British journal of haematology. 2008;142(4):505-14.
161. Habib GS, Saliba WR, Fromm P. Pure red cell aplasia and lupus. Seminars in arthritis and rheumatism. 2002;31(4):279-83.
162. Kiely PD, McGuckin CP, Collins DA, Bevan DH, Marsh JC. Erythrocyte aplasia and systemic lupus erythematosus. Lupus. 1995;4(5):407-11.
163. Gupta RK, Ezeonyeji AN, Thomas AS, Scully MA, Ehrenstein MR, Isenberg DA. A case of pure red cell aplasia and immune thrombocytopenia complicating systemic lupus erythematosus: response to rituximab and cyclophosphamide. Lupus. 2011;20(14):1547-50.
164. Choi BG, Yoo WH. Successful treatment of pure red cell aplasia with plasmapheresis in a patient with systemic lupus erythematosus. Yonsei medical journal. 2002;43(2):274-8.
165. Linardaki GD, Boki KA, Fertakis A, Tzioufas AG. Pure red cell aplasia as presentation of systemic lupus erythematosus: antibodies to erythropoietin. Scandinavian journal of rheumatology. 1999;28(3):189-91.
166. Pereira RM, Velloso ER, Menezes Y, Gualandro S, Vassalo J, Yoshinari NH. Bone marrow findings in systemic lupus erythematosus patients with peripheral cytopenias. Clinical rheumatology. 1998;17(3):219-22.
167. Feng CS, Ng MH, Szeto RS, Li EK. Bone marrow findings in lupus patients with pancytopenia. Pathology. 1991;23(1):5-7.
168. Roffe C, Cahill MR, Samanta A, Bricknell S, Durrant ST. Aplastic anaemia in systemic lupus erythematosus: a cellular immune mechanism? British journal of rheumatology. 1991;30(4):301-4.
169. Otsuka T, Okamura S, Harada M, Ohhara N, Hayashi S, Yamaga S, et al. Multipotent hemopoietic progenitor cells in patients with systemic lupus erythematosus. The Journal of rheumatology. 1988;15(7):1085-90.
170. Yamasaki K, Niho Y, Yanase T. Erythroid colony forming cells in systemic lupus erythematosus. The Journal of rheumatology. 1984;11(2):167-71.
171. Koyanagawa Y. [A possible role of T cell subsets causing anemia in systemic lupus erythematosus (SLE)]. [Hokkaido igaku zasshi] The Hokkaido journal of medical science. 1987;62(3):370-80.
172. Tzioufas AG, Kokori SI, Petrovas CI, Moutsopoulos HM. Autoantibodies to human recombinant erythropoietin in patients with systemic lupus erythematosus: correlation with anemia. Arthritis and rheumatism. 1997;40(12):2212-6.

173. Maciejewski JP, Selleri C, Sato T, Anderson S, Young NS. Increased expression of Fas antigen on bone marrow CD34+ cells of patients with aplastic anaemia. *British journal of haematology*. 1995;91(1):245-52.
174. Gersuk GM, Beckham C, Loken MR, Kiener P, Anderson JE, Farrand A, et al. A role for tumour necrosis factor-alpha, Fas and Fas-Ligand in marrow failure associated with myelodysplastic syndrome. *British journal of haematology*. 1998;103(1):176-88.
175. Wakabayashi Y, Takaku F. [A case of pure red cell aplasia associated with pregnancy and bone marrow cells responsive to erythropoietin in vitro (author's transl)]. *Nihon Ketsueki Gakkai zasshi : journal of Japan Haematological Society*. 1980;43(3):514-22.
176. Itoh Y, Aizawa S, Nehashi Y, Tsuda A, Iwabuchi H, Kurosawa K, et al. Pure red cell aplasia combined with pregnancy. *American journal of hematology*. 1993;43(1):79.
177. Baker RI, Manoharan A, de Luca E, Begley CG. Pure red cell aplasia of pregnancy: a distinct clinical entity. *British journal of haematology*. 1993;85(3):619-22.
178. Choudry MA, Moffett BK, Laber DA. Pure red-cell aplasia secondary to pregnancy, characterization of a syndrome. *Annals of hematology*. 2007;86(4):233-7.
179. Miller AC, Rashid RM. Three episodes of acquired pure red cell aplasia restricted to pregnancy. *Journal of perinatal medicine*. 2008;36(3):270-1.
180. Aggio MC, Zunini C. Reversible pure red-cell aplasia in pregnancy. *The New England journal of medicine*. 1977;297(4):221-2.
181. Miyoshi I, Hikita T, Koi P, Kimura I. Reversible pure red-cell aplasia in pregnancy. *The New England journal of medicine*. 1978;299(14):777
182. Lehman G, Alcock J. Reversible pure red cell hypoplasia in pregnancy. *JAMA : the journal of the American Medical Association*. 1982;247(8):1170-1. 4. Majer RV, Green PJ. Recurrent reversible pure red cell aplasia in pregnancy. *Clinical and laboratory haematology*. 1988;10(1):101-3.
183. Majer RV, Green PJ. Recurrent reversible pure red cell aplasia in pregnancy. *Clinical and laboratory haematology*. 1988;10(1):101-3.
184. Bamberg P, Varma N, Varma S, Vashishta K, Dash S, Deodhar SD. Prolonged, pregnancy-related pure red cell aplasia; a case report. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*. 1991;42(3):233-5.
185. Makino Y, Nagano M, Tamura K, Kawarabayashi T. Pregnancy complicated with pure red cell aplasia: a case report. *Journal of perinatal medicine*. 2003;31(6):530-4.

ANEXOS

Tabela I – Escala de probabilidade de efeitos adversos de um fármaco

Questão	Sim	Não	Não Sabe
Existem relatos credíveis prévios sobre esta interacção em humanos?	1	0	0
O EA apareceu após a administração do fármaco suspeito?	2	-1	0
O EA desapareceu quando o fármaco suspeito foi descontinuado ou quando um antagonista específico foi administrado?	1	0	0
O EA reapareceu quando o fármaco foi readministrado?	2	-1	0
Existem causas alternativas (outras que não o fármaco) que pudessem causar a reação?	-1	2	0
A reação reaparece quando um placebo é administrado?	-1	1	0
O fármaco foi detetado no sangue (ou noutros fluidos biológicos) em concentrações consideradas tóxicas?	1	0	0
A reação aumenta de intensidade com o aumento da dose ou torna-se menos severa com a redução da dose?	1	0	0
O doente tem história de reação igual ou semelhante para o mesmo fármaco noutra exposição prévia?	1	0	0
A reação adversa foi confirmada por qualquer evidência objetiva?	1	0	0
Pontuação Total da Relação Causal: Definida >8; Provável 5-8; Possível 2-4; Duvidosa <2 EA: Evento Adverso			

Adaptado: Naranjo CA, Busto U, Sellers EM, et al. A method for estimating the probability of adverse drug reactions. Clin Pharmacol Ther 1981;30:239-45.

TABELA II – Casos descritos na literatura sobre ARP secundária à gravidez

Características das doentes (na apresentação)			Características da ARP				Características da gravidez			Características do(s) filho(s)		Autor
Idade	Nº gravidezes	Semanas gestacionais ao Diagnóstico	Hb (g/dL) de apresentação	Medula Óssea	Tratamento	Recuperação dos níveis de Hb pós- parto (semanas)	Duração da gestação (semanas)	Tipo de parto	Gravidez subsequente	Resultado	Hb (g/dL)	
15	1	24	5,2	Hipoplasia eritróide e plasmocitose	TS	4	30	Cesariana	1 N	Morte prematuramente	Normal	Aggio ⁽¹⁸⁰⁾
23	2	12	2,9	Hipoplasia eritróide	TS, PD	8	12	Aborto Artificial	ND	Morte prematuramente	ND	Miyosih ⁽¹⁸¹⁾
23	1	24	9	Hipoplasia eritróide	TS, ferro, folato, piridoxina	6	40	ND	ND	Vivo	Normal	Lehman ⁽¹⁸²⁾
18	1	20	8,3	ND	Ferro	12	FT	Vaginal	1 ARP	Nado-morto	ND	Majer ⁽¹⁸³⁾
26	1	28	7,6	Hipoplasia eritróide	TS, Ferro, Folato	4	ND	ND	ND	Vivo	ND	Majer (R) ⁽¹⁸³⁾
35	2	3º T	ND	Hipoplasia eritróide	TS, Ferro, Folato, PD	ND	FT	ND	1 AE	Nado-morto	ND	Bambery ⁽¹⁸⁴⁾
33	ND	30	2,8	Hipoplasia eritróide	TS, PD	20	38	ND	ND	Vivo	Normal	Itoh ⁽¹⁷⁶⁾
31	1	10	7,6	Hipoplasia eritróide	TS	4	36	Cesariana	ND	Vivo	Normal	Baker ⁽¹⁷⁷⁾
31	2	19	8,5	Hipoplasia eritróide	TS, Ferro, PD	ND	37	Vaginal	ND	Vivo	Normal	Makino ⁽¹⁸⁵⁾

Características das doentes (na apresentação)			Características da ARP				Características da gravidez			Características do(s) filho(s)		Autor
Idade	Nº gravidezes	Semanas gestacionais ao Diagnóstico	Hb (g/dL) de apresentação	Medula Óssea	Tratamento	Recuperação dos níveis de Hb pós- parto (semanas)	Duração da gestação (semanas)	Tipo de parto	Gravidez subsequente	Resultado	Hb (g/dL)	
28	1	3º T	ND	Hipoplasia eritróide	TS	ND	3º T	Vaginal	1 ARP	Vivo	Normal	Wakabayashi (175)
31	2	1º T	4,1	Hipoplasia eritróide	TS, PD	ND	27	Aborto Artificial	ND	Morto Prematuramente	Normal	Wakabayashi (R) (175)
33	3	17	5,1	Hipoplasia eritróide	TS, PD	10	FT	Cesariana	1 ARP	Vivo	Normal	Choudry (178)
36	4	MPX	5,3	Hipoplasia eritróide	TS, ciclosporina, ATG	28	39	NA	1 ARP	NA	NA	Choudry (178)
40	4	14	6	Hipoplasia eritróide	TS	8	FT	Cesariana	0	Vivo	Normal	Choudry (178)
ND	1	ND	3,2	Hipoplasia eritróide	TS	ND	FT	ND	2 ARP	Vivo	Normal	Miller (179)
ND	1	1º T	4,8	Hipoplasia eritróide	TS	16	34	Vaginal	1 ARP	Vivo	Normal	Miller (R) (179)
ND	2	13	5,1	Hipoplasia eritróide	TS	ND	ND	ND	ND	ND	ND	Miller (R) (179)
36	2	14	8,7	Hipoplasia eritróide, dismegacariocitose	TS , Ferro, vit B12	ND	39	Vaginal Distócito	ND	Vivo	ND	Castro

Adaptado de (178)

Abreviaturas; ATG – Globulina Anti-timocítica; FT- *Full Term*; Hb,- Hemoglobina; NA- não aplicável; ND- não descrito; MPX- Medroxiprogesterona; PD- Prednisolona; (R)- reincidência de ARP na mesma doente; T- Trimestre; TS- transfusões sanguíneas